

SÉRIE A, n° 1668

N° D'ORDRE :
2534

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PAR

G.-P. LE GALLIO

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE CARACTÈRE D'ÉLECTIVITÉ
DES FERMENTS LACTIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. JAVILLIER, *Président.*

E. DARMOIS

AUBEL

} *Examineurs.*



SOCIÉTÉ RÉGIONALE D'IMPRIMERIE ET DE PUBLICITÉ
16-18, Rue Saint-Mars, ÉTAMPES

1936

SÉRIE A, N° 1668

N° D'ORDRE :
2534



THÈSES

PRÉSENTÉES

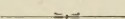
A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PAR

G.-P. LE GALLIC



1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE CARACTÈRE D'ÉLECTIVITÉ
DES FERMENTS LACTIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. JAVILLIER, *Président.*

E. DARMOIS

AUBEL

} *Examineurs.*



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

Professeurs honoraires :

H. LE CHATELLIER.	Rémy PERRIER.	PÉCHARD.	JANET.
H. LEBESGUE.	Léon BRILLOUIN.	FREUNDLER.	LESPIEAU.
A. FERNBACH.	GOURSAT.	AUGER.	MARCHIS.
A. LEDUC.	WALLERANT.	BLAISE.	VESSIOT.
Émile PICARD.	GUILLET.	DANGEARD.	

PROFESSEURS

G. BERTRAND ...	T Chimie biologique.	L. JOLEAUD	Paléontologie.
M. CAULLERY ...	T Zoologie (Évolution des êtres organisés).	ROBERT-LÉVY ...	Zoologie.
G. URBAIN	T Chimie générale.	F. PICARD	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
Émile BOREL ...	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	Henri VILLAT....	T Mécanique des fluides et applications.
Jean PERRIN	T Chimie physique.	Ch. JACOE	T Géologie.
H. ABRAHAM	T Physique.	P. PASCAL	T Chimie minérale.
E. CARTAN	T Géométrie supérieure.	M. FRÉCHET.....	T Calcul différentiel et calcul intégral.
M. MOLLIARD....	T Physiologie végétale.	E. ESCLANGON...	T Astronomie.
L. LAPICQUE	T Physiologie générale.	M ^{me} RAMART-LUCAS.....	T Chimie organique.
A. COTTON	T Recherches physiques.	H. BÉGHIN.....	T Mécanique physique et expérimentale.
J. DRACH.	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles FABRY ..	T Enseignement de Physique.	PAUTHENIER.....	Physique (P. C. B.).
Charles PÉREZ. ..	T Zoologie.	De BROGLIE.	T Théories physiques.
Léon BERTRAND..	T Géologie structurale et Géologie appliquée.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
P. PORTIER	T Physiologie comparée.	P. JOB	Chimie générale.
E. RABAUD	T Biologie expérimentale.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
M. GUICHARD ...	Chimie minérale.	PRENANT	Zoologie.
Paul MONTEL....	T Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
P. WINTREBERT..	T Anatomie et Histologie comparées.	BOHN.	Zoologie (P. C. B.).
L. BLARINGHEM..	T Botanique.	COMBES	Botanique (P. C. B.).
O. DUBOSCQ.....	T Biologie maritime.	GARNIER.	T Mathématiques générales.
G. JULIA.....	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	PÉRÈS.....	Mécanique théorique des fluides.
C. MAUGUIN.....	T Minéralogie.	HACKSPILL.....	Chimie (P. C. B.).
A. MICHEL-LÉVY.	T Pétrographie.	LAUGIER	Physiologie générale.
H. BÉNARD	T Mécanique expérimentale des fluides.	TOUSSAINT	Technique Aéronautique.
A. DENJOY.....	T Application de l'analyse à la Géométrie.	M. CURIE	Physique (P. C. B.).
L. LUTAUD.....	T Géographie physique et Géologie dynamique.	G. RIBAUD.....	T Hautes températures.
Eugène BLOCH...	T Physique théorique et Physique céleste.	CHAZY	T Mécanique rationnelle.
G. BRUHAT.....	Physique.	GAULT	Chimie (P. C. B.).
E. DARMOIS	Enseignem. de Physique.	CROZE	Recherches physiques.
A. DEBIERNE....	T Physique générale et Radioactivité.	DUPONT.....	T Théories chimiques.
A. DUFOUR	T Physique (P. C. B.).	LANQUINE.....	Géologie
L. DUNOYER	Optique appliquée.	VALIRON.	Mathématiques générales.
A. GUILLIERMOND.	T Botanique.	BARRABÉ.....	Géologie structurale et Géologie appliquée.
M. JAVILLIER....	Chimie biologique.	MILLOT	Zoologie (P. C. B.).
		F. PERRIN.....	Théories physiques.
		VAVON.....	Chimie organique.
		G. DARMOIS....	Calcul des Probabilités et Physique, Mathématique.

Secrétaire A. PACAUD.

Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

RELATIONS D'INCERTITUDE

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 16 Septembre 1936.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

VU

et Permis d'imprimer,

*Le Recteur de l'Académie
de Paris,*

S. CHARLÉTY.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MONSIEUR LE DOCTEUR MARTIN

*Directeur de l'Institut Pasteur,
Membre de l'Académie de Médecine.*

Hommages très respectueux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR NICOLAU

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur.

En remerciement pour sa constante et
fidèle amitié.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTRAND

*Professeur à la Faculté des Sciences,
Chef de Service à l'Institut Pasteur,
Membre de l'Institut, de l'Académie de Médecine
et de l'Académie d'Agriculture.*

En hommage de bien sincère gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JAVILLIER

Professeur à la Faculté des Sciences

Professeur au Conservatoire National des Arts et Métiers

En faible témoignage d'une vive reconnaissance.

A MONSIEUR SCHOEN

*Professeur à l'Institut Pasteur,
Chef du Service des Fermentations.*

En reconnaissance de sa si haute
bienveillance.

A MADEMOISELLE RUCKELMANN

En souvenir d'une bonne camaraderie.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE I. — Introduction	5
CHAPITRE II. — Diagrammes	9
§ 1. — <i>Diagramme des vitesses</i>	10
§ 2. — <i>Diagramme des concentrations</i>	11
§ 3. — <i>Diagramme des taux de sucres disparus pour</i> <i>100 du mélange de sucre initial</i>	14
§ 4. — <i>Diagramme de la déformation</i>	16
§ 5. — <i>Résumé et conclusions</i>	24
CHAPITRE III. — Méthodes analytiques	27
§ 1. — <i>Généralités</i>	27
§ 2. — <i>Dosage des sucres</i>	28
§ 3. — <i>Contrôle du milieu et des résultats d'analyse chi-</i> <i>mique par la déviation optique observée au</i> <i>polarimètre</i>	29
§ 4. — <i>Mesure du pouvoir rotatoire du lactate</i>	31
§ 5. — <i>Dosage de l'acide lactique</i>	32
CHAPITRE IV. — Quelques exemples de fermentations lactiques électives	35
§ 1. — <i>Milieu de culture</i>	35
§ 2. — <i>Culture</i>	36
§ 3. — <i>Bacille 30 et Streptococcus V</i>	36
§ 4. — <i>Thermobacterium lactis et β coccus bovis</i>	38
§ 5. — <i>Influence du pH sur l'électivité du β coccus bovis</i> <i>et du Thb. lactis</i>	41
§ 6. — <i>Fermentation d'une solution de saccharose in-</i> <i>terverti par des bacilles lavés en présence de</i> <i>craie</i>	42
CHAPITRE V. — Etude d'une fermentation lactique élec- tive	45
§ 1. — <i>Variation de l'électivité des ferments lactiques</i> <i>avec la concentration initiale en saccharose</i> <i>interverti du milieu</i>	46

§ 2. — <i>Fermentation lactique des milieux de cultures dont la composition du mélange des sucres est quelconque</i>	50
§ 3. — <i>Influence de la nature des sucres sur la fermentation lactique</i>	52
§ 4. — <i>Particularités de la fermentation lactique élective</i>	54
§ 5. — <i>Conclusion</i>	55
CHAPITRE VI. — Comparaison de l'électivité des ferments lactiques avec la configuration stéréoisomérique de l'acide lactique formé	57
§ 1. — <i>Introduction</i>	57
§ 2. — <i>L'activité optique de l'acide lactique de fermentation</i>	60
§ 3. — <i>La configuration du sucre qui fermente ne peut se transmettre à l'acide lactique</i>	62
§ 4. — <i>Corrélation entre deux propriétés d'ordre stéréochimique des bacilles lactiques</i>	63
CHAPITRE VII. — Recherches sur le rendement de la fermentation lactique. La classification d'Orla Jensen ..	64
CHAPITRE VIII. — Rôle de l'acide lactique non dissocié dans l'arrêt de la fermentation	69
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	72

RÉPERTOIRE DES FORMULES

Formules (1), (2) et (3)	page	9
— (4)	—	10
— (5), (6) et (7)	—	12
— (8) et (9)	—	13
— (10)	—	16
— (11)	—	16 et 51
— (12) et (13)	—	17
— (14)	—	19
— (15) et (16)	—	20
— (17) et (18)	—	21
— (19) et (20)	—	22
— (21)	—	52
— (22), (23) et (24)	—	69

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

*On n'a pas toujours conçu l'électivité comme nous le faisons aujourd'hui, mais le phénomène lui-même est connu depuis longtemps. Dès 1843, Soubeiran ⁴³ a observé les variations profondes de la déviation optique que présentent les solutions de sucre de canne, ou de betterave, hydrolysés par les acides. Dubrunfaut ¹², en 1847, a reconnu le premier que le sucre interverti doit être un mélange de deux sucres, et que le rapport des concentrations de ces sucres varie au cours de la fermentation, ou bien, si l'on préfère, que la composition du mélange des sucres restants se modifie ; il a observé ce phénomène aussi bien dans la fermentation lactique que dans la fermentation alcoolique et ses nombreuses expériences sont pleines d'enseignement ; interprétées avec nos connaissances chimiques actuelles, elles s'accordent avec les conclusions de ce travail. Dubrunfaut a donné le nom de fermentation élective à ce phénomène qu'il a interprété ainsi : premièrement le saccharose interverti est un mélange de deux sucres, l'un est inactif sur la lumière polarisée, et l'autre est lévogyre ; deuxièmement, l'électivité résulte de la fermentation **successive** de deux constituants du mélange des sucres ; troisièmement, le ferment choisit celui des deux sucres qu'il **préfère** et l'attaque en premier lieu, d'où le nom d'électivité.*

Bourquelot ⁴, en 1886, reprend le travail de Dubrunfaut avec des idées plus modernes sur la constitution des sucres. Il établit que le phénomène électif est la fermentation **simultanée** de deux sucres, avec des vitesses différentes. Il donne les deux définitions possibles de l'électivité : ce phénomène est à la fois, « un changement dans le rapport existant entre les proportions respectives des » deux sucres en fermentation, et « la destruction simultanée à poids inégaux de chacun des sucres » ; dans l'exposé systématique de ces deux manières de voir, que l'on trouvera plus loin, au chapitre II, l'action d'un ferment sur la composition du mélange de sucre sera appelée la **déformation du milieu** et la « destruction par poids inégaux » sera caractérisée par le rapport des vitesses de fermentation, ou mieux par le rapport des vitesses moyennes de fermentation.

Mais Bourquelot se refuse à voir dans l'électivité le résultat d'une

préférence du ferment pour l'un des sucres. Son argumentation repose sur les variations considérables qu'il peut faire subir au rapport des quantités de chacun des sucres qui disparaissent simultanément. Nous montrerons dans ce travail que Bourquelot s'est exagéré l'importance de ces variations, au point d'avoir parfois forcé les faits.

Gayon et Dubourg ²³ (1890) ont repris l'étude de la fermentation élective ; ils ont signalé l'existence d'une levure qui présente une électivité en faveur du fructose, alors que la plupart des levures font fermenter le glucose plus vite que le fructose ; cette découverte d'une levure ayant manifestement une électivité opposée à l'électivité des levures ordinaires, a conduit Gayon et Dubourg à concevoir que les ferments possèdent un « pouvoir électif » bien défini, contrairement à ce que disait Bourquelot, et cette idée leur a inspiré la première tentative faite pour tirer de la mesure des vitesses des fermentations simultanées des deux sucres, un critère permettant d'évaluer ce pouvoir électif. Nous discuterons, en détail, au chapitre suivant, l'idée de ces auteurs : disons tout de suite que les conclusions qu'ils tirent de leurs expériences peuvent être regardées comme inattaquables : c'est ainsi qu'ils ont montré que les levures ordinaires ont un « pouvoir électif » indépendant de la concentration initiale du milieu en sucre interverti, alors que les levures de Sauternes qui ont une électivité en faveur du fructose, possèdent un « pouvoir électif » variable avec la concentration initiale de ce mélange de sucres, et avec la température.

MM. Willstätter et Sobotka ⁴⁸ (1922) ont voulu également évaluer le pouvoir électif des levures ; mais ils ont pensé avec raison, que le critère qu'ils cherchaient devait reposer sur une propriété intrinsèque de la fermentation élective, ce qui les a conduits à avancer une théorie très discutable de ce phénomène. Nous montrerons au chapitre suivant que leur théorie se ramène au fond à l'idée maîtresse de Gayon et Dubourg. Aussi il n'est pas étonnant que Hopkins ²⁶, en appliquant les idées de MM. Willstätter et Sobotka à l'étude des fermentations électives produites par des levures ordinaires, ait retrouvé, à son insu, un des résultats obtenus par Gayon et Dubourg, à savoir que le pouvoir électif des levures ordinaires ne dépend pas de la concentration initiale du milieu en sucre interverti (1).

MM. Fernbach, Schoen et Mori ¹⁵ (1928) ont étudié la fermentation des mélanges d'aldoses et de cétooses résultant de l'action du carbonate de sodium sur une solution de glucose à 20 %, à la température de 40°, de manière à obtenir un mélange de sucres inactif par compensation sur la lumière polarisée. Leurs prédécesseurs avaient,

(1) M. Sobotka a, également, retrouvé la variabilité du pouvoir électif des levures de Sauternes suivant les conditions de croissance des cellules ⁴².

en général, étudié les fermentations de solutions de sucre interverti, qui contiennent des quantités égales des deux sucres en mélange ; aussi M. Fernbach et ses collaborateurs ont-ils dû proposer une définition de l'électivité applicable à ce cas ; pour cela ils ont fait appel, d'une part à la déviation optique du milieu, définition traditionnelle depuis Soubiran et Dubrunfaut, et, d'autre part, à une conception nouvelle, mais dont l'idée profonde se trouve déjà dans la notion du pouvoir électif de Gayon et Dubourg, comme nous le montrerons au chapitre II.

En 1924 (thèse de Schiller) ¹⁴ et ⁴¹, on a découvert l'influence du pH sur l'électivité des levures et l'existence de levures dont l'électivité « se renverse » au cours de la fermentation d'un milieu renfermant du sucre interverti ; cela veut dire que, au début de la fermentation, le milieu renferme le fructose en excès sur le glucose, alors que le glucose est en excès sur le fructose à la fin de la fermentation ; autrement dit, en analysant le milieu au cours de la fermentation, on constate que la concentration du glucose est d'abord égale, puis plus petite, puis égale, et pour finir plus grande que celle du fructose. Nous montrerons au chapitre II que la marche d'une fermentation de ce type n'est pas conforme à la théorie de la fermentation élective de MM. Willstätter et Sobotka, et que, par suite, cette théorie ne s'applique sûrement pas à toutes les fermentations.

Signalons encore la découverte, due à M. Schoen, de levures ayant une électivité en faveur du glucose, alors que la zymine qu'on prépare avec ces levures a une électivité en faveur du fructose, découverte qui suffit pour établir que les deux sucres fermentent sous l'influence de la même diastase (Ann. de la Brasserie ¹⁶, 1928-29).

Pour finir, signalons la découverte par M. Fritz Lieben et Mlle Luise Löwe ³⁵, de deux microbes qui consomment le fructose plus vite que le glucose quand on les ensemence dans des milieux qui ne renferment qu'un seul de ces sucres, alors qu'ils font preuve d'une électivité en faveur du glucose, quand le milieu renferme du sucre interverti. Ce fait doit être interprété avec précaution car le nombre de cellules formées peut varier avec la nature du sucre offer (voir chapitre V).

Il convient maintenant de citer les recherches faites sur d'autres mélanges de sucres que le glucose et le fructose, comme celles de MM. Willstätter et Sobotka ⁴⁷, sur le glucose et le galactose (1922) et sur le glucose β et le glucose α (1922) ; cette dernière recherche a été reprise en 1931 par M. Hopkins ²⁷ : il a été établi que les levures ordinaires mises en grande quantité dans une solution concentrée de glucose ont une électivité pour le β glucose, et les levures de Sauternes ont une électivité pour l' α -glucose ; ces levures, sur une solution de fructose provoquent également un phénomène électif,

ce qui montre la nature chimique complexe du fructose en solution aqueuse, les levures de Sauternes ayant un pouvoir électif inverse des levures ordinaires, comme précédemment.

L'intérêt que présente l'étude de la fermentation élective réside dans l'apparente simplicité de ce phénomène biochimique : en premier lieu, deux aldoses fermentescibles sont des **stéréoisomères**, de sorte que ces deux espèces chimiques diffèrent seulement par leur conformation stérique ; au contraire lorsqu'il s'agit d'un aldose et d'une cétose, le problème est un peu plus compliqué ; en second lieu, les produits intermédiaires connus de la fermentation sont les mêmes pour tous les sucres ; et enfin, le rôle principal des glucides, en biologie, est de libérer par leur fermentation, une énergie chimique considérable, qui peut être utilisée par les cellules vivantes à l'édification de nouvelles molécules, ou à la production de travail mécanique ; ce sont donc surtout des réserves d'énergie libre à la disposition des êtres vivants. — Aussi, il n'est pas étonnant que ce phénomène d'apparence simple, ait été considéré comme une sorte de « cas limite » comme on dit en physique ; autrement dit, on a cherché à établir des analogies entre la fermentation élective et d'autres phénomènes, avec l'espoir d'en tirer une indication sur la nature des phénomènes que l'on croit pouvoir assimiler l'un à l'autre.

On considère maintenant que les transformations biochimiques dites « processus asymétriques » entrent dans cette notion généralisée de l'électivité (M. Schoen 4°, Ann. de la Bras. 1934, p. 1). Je discuterai au chapitre VI les résultats des recherches sur les relations qui existent entre deux propriétés asymétriques des ferments lactiques, l'une d'elles étant l'électivité présentée par ces microbes, et l'autre, l'activité optique de l'acide lactique formé.

Au chapitre V, j'exposerai deux résultats expérimentaux qui montrent que la fermentation élective n'est pas sans analogie non plus, avec un autre phénomène : l'assimilation.

En résumé : Le chapitre II est consacré aux discussions sur les théories de la fermentation élective, le chapitre V, à l'analogie qui existe entre ce phénomène et la nutrition et le chapitre VI, à une recherche sur les propriétés asymétriques des ferments lactiques, l'électivité étant considérée comme l'une de ces propriétés asymétriques.

CHAPITRE II

DIAGRAMMES

Ce chapitre est consacré à la définition précise de l'électivité d'un ferment et de son pouvoir électif ; comme cette question est très complexe, il faudra considérer une à une les principales propriétés d'une fermentation élective et les représentations graphiques qu'on peut en donner.

Dans ce qui suit, nous avons simplifié le langage par l'emploi des notations suivantes :

S_0 désignera la concentration initiale du mélange des sucres, G_0 et F_0 , les concentrations initiales du glucose et du fructose ; S , G et F , les concentrations du mélange des sucres, du glucose et du fructose restants, à un instant donné de la fermentation. Enfin, les concentrations du mélange du glucose et du fructose, qui ont disparu entre l'instant que l'on considère comme l'instant initial de la fermentation et un moment quelconque de la fermentation, seront désignées par :

$$(1) \quad \Delta S = S_0 - S, \quad \Delta G = G_0 - G, \quad \Delta F = F_0 - F$$

Ces trois relations seront fréquemment utilisées par la suite.

Avec ces notations, on peut désigner le taux du glucose *disparu* pour 100 du mélange initial des sucres par le rapport $\Delta G/S_0$, le taux du glucose *restant* pour 100 du mélange initial des sucres par G/S_0 , le taux du glucose *disparu* pour 100 de la concentration initiale en glucose par $\Delta G/G_0$, et le taux du glucose *restant* pour 100 de la concentration initiale en glucose par G/G_0 . Pour le fructose, les taux correspondants sont désignés par les rapports :

$$\Delta F/S_0, \quad F/S_0; \quad \Delta F/F_0, \quad F/F_0$$

Bien entendu, ces divers rapports sont exprimés en fractions centésimales, puisqu'ils représentent des taux. Il existe des relations entre ces taux, qui sont les homologues des trois relations (1); ce sont :

$$(2) \quad \Delta S/S_0 = 1 - S/S_0, \quad \Delta G/S_0 = \frac{G_0}{S_0} - \frac{G}{S_0}, \quad \Delta F/S_0 = \frac{F_0}{S_0} - \frac{F}{S_0}$$

$$(3) \quad \Delta G/G_0 = 1 - G/G_0, \quad \Delta F/F_0 = 1 - F/F_0$$

§ 1. — Diagramme des vitesses.

En premier lieu, il faut envisager dans une fermentation élective les trois vitesses suivantes : la vitesse de fermentation du mélange des sucres, v_s , celle du glucose v_g , et celle du fructose, v_f . Pour connaître ces vitesses, on dresse le tableau des concentrations, qui ont disparu, du glucose, du fructose, et du mélange des sucres en fonction du temps, compté à partir de l'instant dit initial. Au moyen de ce tableau, il est facile de construire un diagramme où chaque point représentatif a pour coordonnées le temps et la concentration de glucose fermenté à cet instant ; on

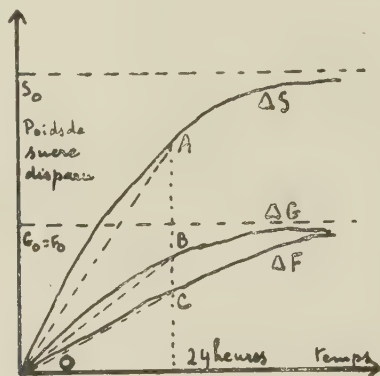


Fig. 1. — Diagramme des vitesses.

Cas du saccharose interverti ; l'électivité est en faveur du glucose.

fait de même pour le fructose et pour le mélange des sucres ; et on obtient, en joignant les points représentatifs, trois courbes continues qui caractérisent la marche de la fermentation, et qui permettent, comme on le verra plus loin, de donner une mesure précise aux trois vitesses de fermentation v_s , v_g , v_f , définies par les relations (4).

$$(4) \quad v_s = \frac{d. \Delta S}{dt}, \quad v_g = \frac{d. \Delta G}{dt}, \quad v_f = \frac{d. \Delta F}{dt}$$

C'est pourquoi nous désignerons ce diagramme sous le nom de « diagramme des vitesses » pour simplifier le langage. Le schéma suivant (fig. (1)) donne l'aspect d'un de ces diagrammes dans le cas où le mélange initial des sucres est du saccharose interverti ; il est clair que cette méthode s'applique à un mélange quelconque de glucose et de fructose.

Ce diagramme jouit des propriétés suivantes :

1^o Les courbes représentatives de ΔS , ΔG , ΔF , sont respectivement au-dessous des horizontales d'ordonnées : S_0 , G_0 , F_0 .

2° Si le mélange initial est du sucre interverti on a :

$$G_0 = F_0 = S_0/2$$

C'est le cas de la figure 1.

3° Il est clair que la *vitesse de fermentation* du glucose, v_g , a même mesure que la tangente à la courbe représentative de ΔG . Il en est de même pour la vitesse, v_f , de fermentation du fructose, et v_s , vitesse de fermentation du mélange (formules 4).

4° La pente des segments OA, OB, OC, qui joignent l'origine à trois points courants situés sur les courbes représentatives de ΔS , de ΔG et de ΔF , a même mesure que la *valeur moyenne de fermentation* du sucre ou du mélange considéré.

Résumé. — Quand on adopte exclusivement le point de vue des vitesses de fermentation pour juger l'électivité, on a coutume de dire que l'électivité est en faveur du glucose si la courbe représentative de ΔG est située au-dessus de celle de ΔF , et inversement dans le cas contraire. Il résulte des propriétés du diagramme précédent que cette définition intuitive est équivalente à la suivante : la fermentation présente une *électivité en faveur du glucose* si la *vitesse moyenne de fermentation* du glucose est plus grande que la vitesse moyenne de fermentation du fructose. En effet, la pente du segment OB, qui joint l'origine au point courant, B, de la courbe représentative du glucose est plus grande que la pente du segment, OC, le point, C, étant situé sur la courbe représentative du fructose, et ayant la même abscisse que le point B.

§ 2. — Diagramme des concentrations.

Il est possible de donner une autre représentation graphique de l'électivité, quand on adopte toujours exclusivement le point de vue des vitesses de fermentation, ou mieux, celui des vitesses moyennes de fermentation, ainsi que nous venons de le voir. La représentation proposée a pour but essentiel de permettre une comparaison *exacte* entre les pouvoirs électifs, notion qui résulte intuitivement de la comparaison des écarts qui séparent les courbes représentatives de ΔG et de ΔF , entre les diagrammes représentatifs de plusieurs fermentations électives.

Le diagramme que nous proposons permet de lire sur la figure la valeur du rapport, v , des vitesses de fermentation, la valeur, c , du rapport des vitesses moyennes de fermentation, et la valeur, γ , du rapport des concentrations des sucres restants.

3° Il en résulte que la pente du segment OM, qui joint l'origine au point courant M, est égale d'une part, à la *valeur moyenne du rapport des vitesses de fermentation*, et, d'autre part, au rapport des quantités de glucose et de fructose qui ont fermenté simultanément, autrement dit, à la *composition des sucres disparus*, c.

Si on désigne par : a, l'angle MOF₀, on a :

$$(8) \quad \operatorname{tg} a = \frac{\Delta G}{\Delta F} = c$$

Nous avons vu, au paragraphe 1, que, suivant que c est plus grand ou plus petit que 1, ce qui est immédiatement visible sur le graphique, on déduit que l'électivité est en faveur du glucose ou du fructose.

4° Il est clair d'après les relations (1) reproduites sur la figure (2) que la pente du segment O'M, qui joint le point courant M au sommet O', du rectangle extérieur du diagramme, opposé à l'origine O, est égale à la composition des sucres restants, désignée par la lettre γ. Si on appelle b, l'angle MO'G₀ on a :

$$(9) \quad \operatorname{tg} b = \frac{G}{F} = \gamma$$

La pente du segment OO' est égale à la composition du mélange initial des sucres. Si ce mélange est du sucre interverti, le diagramme est carré et cette pente est égale à 1. C'est le cas des figures (2 et 3).

5° Les grandeurs intéressantes qui sont représentées sur le diagramme des concentrations sont surtout des rapports : rapport des vitesses de fermentation, v, composition du mélange des sucres restants, γ, composition du mélange des sucres disparus, c ; ces rapports y sont figurés par des fonctions d'angles ; donc leur mesure est *indépendante de l'échelle du diagramme*.

Résumé. — Les propriétés de ce diagramme vont permettre de résoudre le problème posé au début de ce paragraphe et qui était : donner une définition de l'intuition de pouvoirs électifs différents, que l'on a, en comparant les écarts des courbes représentatives de Δ G et de Δ F sur les diagrammes des vitesses de deux fermentations. Il est clair que cette intuition est équivalente à la règle suivante : si on représente deux fermentations sur le même diagramme des concentrations, celle dont la courbe représentative est supérieure à l'autre courbe, a sûrement un pouvoir électif plus grand. Ce critère, qui traduit une intuition, peut à son tour recevoir une définition précise : en effet, considérons les pentes des segments, OM₁ et OM₂, qui joignent

l'origine à deux points courants M_1 et M_2 de même abscisse, x , et situés chacun sur l'une des courbes (fig. 3) ; si la courbe décrite par M_1 est supérieure à celle décrite par M_2 , la pente de OM_1 est plus grande que celle de OM_2 ; donc la *moyenne du rapport des vitesses* de fermentation dans la première fermentation est plus grande que la moyenne du rapport des vitesses de fermentation de la seconde fermentation, — ou bien encore, *le mélange des sucres disparus contient une plus forte proportion de glucose dans la première fermentation que dans la seconde*, puisque la valeur moyenne de v , est égale à la composition, c , du mélange des sucres disparus.

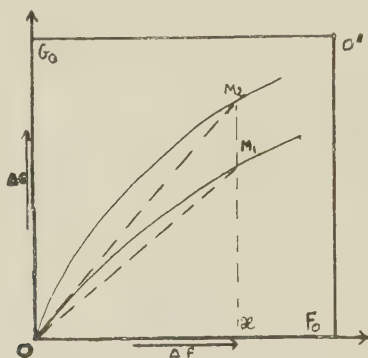


Fig. 3. — Diagramme des concentrations.
Comparaison de deux fermentations électives.

§ 3. — Diagramme des taux de sucres disparus pour 100 du mélange de sucre initial

Il est parfois commode, comme l'ont fait quelques-uns, de substituer aux valeurs ΔG et ΔF des concentrations des sucres consommés, les valeurs $\Delta G/S_0$ et $\Delta F/S_0$, des taux de ces concentrations pour 100 du mélange initial des sucres. On pourrait répéter ici tout ce qui a été écrit aux paragraphes précédents (1 et 2), en substituant $\Delta G/S_0$ à ΔG et $\Delta F/S_0$ à ΔF ; et on arriverait exactement aux mêmes conclusions.

Prenons par exemple le diagramme des concentrations (§ 2) : si on construit un diagramme où chaque point M a pour coordonnées les taux, $\Delta G/S_0$ et $\Delta F/S_0$, de glucose et de fructose disparus simultanément, on obtient une figure *semblable* au diagramme des concentrations, avec le rapport de similitude $1/S_0$; aussi, ce nouveau diagramme (fig. 4) qui sera dénommé *diagramme des taux*, peut être déduit du diagramme des concentrations par un simple changement d'échelle, et, par suite, les

rapports v , c , et γ sont représentés sur le diagramme des taux exactement de la même manière que sur le diagramme des concentrations.

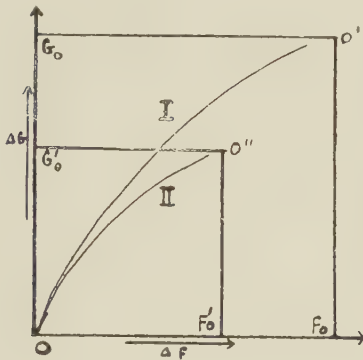


Fig. 3 bis.

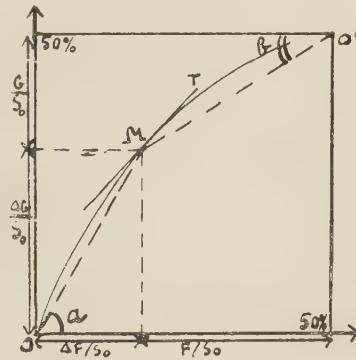


Fig. 4.

Fig. 3 bis. — Diagramme des concentrations.

Comparaison des fermentations électives de deux solutions de concentrations différentes en saccharose interverti.

Fig. 4. — Diagramme des taux.

La forme de ce diagramme ne varie pas avec la concentration des solutions de saccharose interverti.

Les courbes I' et II' (fig. 4) sont confondues ; aussi leurs homologues I et II, bien que distinctes ont même tangente à l'origine O (fig. 3 bis).

Il y a pourtant une différence entre le diagramme des concentrations et celui des taux : on ne peut pas utiliser ce diagramme pour comparer les pouvoirs électifs de deux milieux en fermentation, renfermant le premier la concentration S_0 du mélange des sucres, et le second la concentration S'_0 ; en effet, l'ensemble des courbes I et II, qui représentent la marche de deux fermentations électives sur le diagramme des concentrations (fig. 3') n'est pas semblable à l'ensemble des courbes I' et II' homologues des précédentes, dans un diagramme des taux ; en effet, les courbes I et I', qui représentent toutes deux la marche de la première fermentation, sont semblables dans le rapport $1/S_0$, et les courbes II et II' relatives à la deuxième fermentation sont semblables également, mais dans le rapport $1/S'_0$, différent de $1/S_0$.

On verra au paragraphe suivant que la position relative des courbes I' et II' du diagramme des taux a un sens, parce que l'ensemble des courbes I' et II' du diagramme des taux est semblable à l'ensemble des deux courbes qui représentent la première et la seconde fermentation sur un autre diagramme, qui va être étudié au paragraphe suivant. Mais ce sens est différent de celui

que l'on déduit de la position relative des courbes qui représentent la marche de deux fermentations électives sur un diagramme des concentrations. Ce diagramme des taux apporte une solution bâtarde au problème de la représentation de la fermentation élective ; il faut l'employer avec précaution.

§ 4. — Diagramme de la déformation

Le diagramme des concentrations qui résultait de la considération des vitesses de fermentation, avait pour but principal de mettre en évidence le rapport des vitesses de fermentation et la composition du mélange des sucres disparus. Dans ce qui va suivre, l'attention va porter sur la *modification* que subit la composition du mélange des *sucres restants* sous l'influence de la fermentation ; de cette considération, il résultera une nouvelle manière d'envisager le pouvoir électif. J'ai appelé « déformation du milieu » cette modification de la composition des sucres, indépendamment des concentrations absolues.

Considérons d'abord le tableau des taux de glucose pour 100 de la concentration initiale en glucose, en fonction du temps qui s'est écoulé depuis le moment qu'on a convenu d'appeler l'instant initial ; faisons de même avec le fructose ; on peut construire un diagramme analogue à celui des vitesses de fermentation (§ 1) ; sur ce diagramme on définira de nouvelles vitesses, celle de la variation du taux de glucose pour 100 du glucose initial, u_g ; et celle de la variation du taux de fructose pour 100 du fructose initial u_f . On a :

$$(10) \quad \left\{ \begin{array}{l} u_g = \frac{d. \Delta G / G_0}{dt} = \frac{1}{G_0} \frac{d. \Delta G}{dt} = \frac{1}{G_0} v_g \\ u_f = \frac{d. \Delta F / F_0}{dt} = \frac{1}{F_0} \frac{d. \Delta F}{dt} = \frac{1}{F_0} v_f \end{array} \right.$$

Les formules (10) indiquent une relation entre les vitesses u_g et u_f et les vitesses de fermentations v_g et v_f définies par les formules (4).

Le rapport, p , des vitesses u_g et u_f est :

$$(11) \quad p = \frac{\frac{d. \Delta G / G_0}{dt}}{\frac{d. \Delta F / F_0}{dt}} = \frac{F_0}{G_0} \cdot \frac{d. \Delta G}{d. \Delta F} = \frac{F_0}{G_0} \cdot v$$

La formule (11) donne la relation entre le rapport des vitesses des variations de taux, p , et le rapport des vitesses de fermentation, v .

Remarquons tout de suite que si $G_0 = F_0$, ce qui a lieu quand

le mélange initial des sucres est du sucre interverti, les vitesses u_g et v_f sont proportionnelles aux vitesses de fermentation v_g et v_f et que le rapport, p , est égal au rapport, v , des vitesses de fermentation.

Par analogie avec le diagramme des concentrations (§ 2), on peut construire un diagramme, que j'appellerai diagramme des *déformations*, où chaque point représentatif a pour coordonnées les valeurs des taux de chaque sucre disparu pour 100 de la concentration initiale de chacun des sucres — comme il a été dit. On voit immédiatement que ce diagramme, schématisé (fig. 5), a les propriétés suivantes :

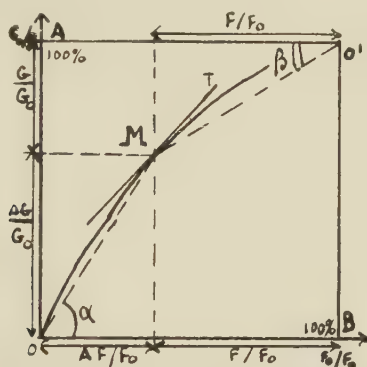


Fig. 5. — Diagramme de la déformation.

La forme de ce diagramme ne varie pas avec le mélange des sucres offerts au ferment.

1° Tous les points représentatifs sont situés à l'intérieur d'un carré, O, A, O', B dont le côté a une longueur proportionnelle au taux 100 %, c'est-à-dire G_0/G_0 et F_0/F_0 .

Les taux de sucre consommé, et les taux de sucre restant, sont unis entre eux par les relations (3) qui ont été représentées sur la figure (5).

2° La pente de la tangente à la courbe représentative est égale, à p , rapport des vitesses de variations, u_g et v_f (formules 10 et 11).

3° Si on désigne par $\text{tg } \alpha$ et $\text{tg } \beta$, les pentes des segments OM et O'M, par analogie avec les alinéas (3) et (4) des paragraphes (2) et (3), on voit que :

$$(12) \quad \text{tg } \alpha = \frac{\Delta G/G_0}{\Delta F/F_0} = \frac{F_0}{G_0} \frac{\Delta G}{\Delta F} = \frac{F_0}{G_0} \quad c$$

$$(13) \quad \text{tg } \beta = \frac{G/G_0}{F/F_0} = \frac{F_0}{G_0} \cdot \frac{G}{F} = \frac{F_0}{G_0} \quad \gamma$$

On remarquera que $\text{tg } \alpha$ et $\text{tg } \beta$ sont des expressions de même forme qu'un rapport anharmonique.

4° Si on considère les expressions de p (11), $\text{tg } \alpha$ (12), $\text{tg } \beta$ (13), et que l'on se souvienne que les homologues de $\text{tg } \alpha$ et $\text{tg } \beta$ sont justement $\text{tg } a = c$ (8) et $\text{tg } b = \gamma$ (9), on voit que l'on peut déduire les expressions, p , $\text{tg } \alpha$ et $\text{tg } \beta$ de leurs homologues, v , c et γ en multipliant ces dernières par F_0/G_0 .

On peut dire que $\text{tg } \beta$ indique les valeurs de la composition des sucres restants par rapport à la composition du mélange initial. Il est donc certain que la courbe représentative du diagramme des déformations indique *les modifications que subit la composition des sucres restants par rapport à la composition du mélange initial*, notion que j'ai justement appelée *la déformation du milieu* : elle se trouve donc ainsi définie. On remarquera l'analogie entre cette définition et celle du rapport anharmonique.

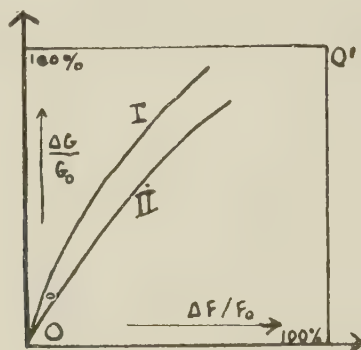


Fig. 6. — Diagramme de la déformation.
Comparaison de deux fermentations électives.

5° Dans le cas où le mélange initial est du sucre interverti ($F_0/G_0 = 1$), le diagramme des déformations est semblable à celui des concentrations et à celui des taux. Le rapport de similitude entre le diagramme des taux et celui des déformations est de $1/2$. Ce rapport est donc indépendant de la concentration initiale en sucre interverti ; il en résulte que la position relative des courbes représentatives des deux fermentations sur le diagramme des taux est, en réalité, la comparaison des déformations des deux milieux sous l'influence de leur ferment respectif, — comme nous l'avions annoncé à la fin du paragraphe précédent (§ 3).

Sans répéter ce qui a été dit du diagramme des concentrations, il est clair que, si la valeur de $\text{tg } \alpha$ est plus grande ou plus petite que 1, u_g sera plus grand ou plus petit que u_f , et on pourra prétendre que l'électivité est en faveur du glucose ou du fructose. En outre, supposons que deux fermentations soient en faveur du glucose : celle dont la courbe représentative est située au-

dessus de l'autre courbe déforme le milieu plus que l'autre. Tout ceci est évident.

Je vais montrer maintenant que cette notion de déformation est l'idée profonde à laquelle se ramènent les théorics de Gayon et Dubourg ²³ (1890), de MM. Willstätter et Sobotka ⁴⁸ (1922) et de MM. Fernbach, Schoen et Mori ¹⁵ (1929).

Gayon et Dubourg ont été les premiers à utiliser la notion de déformation du milieu pour comparer les « pouvoirs électifs » des fermentations dans des milieux de concentrations différentes en sucre interverti. Ces auteurs déterminaient les concentrations restantes de glucose et de fructose en mesurant le sucre total restant et la déviation optique du milieu donnée par

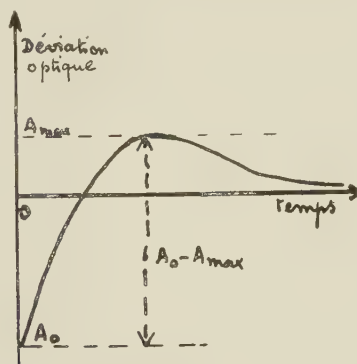


Fig. 7. — Critère de Gayon et Dubourg.

Cette figure schématise la fermentation d'une solution de saccharose interverti par une levure de Sauternes.

le polarimètre. En outre, ils ont remarqué que certaines levures faisaient fermenter le milieu de telle sorte que la déviation optique d'abord gauche, puisque le saccharose interverti est lévogyre, diminuait, s'annulait, puis devenait droite ; elle atteignait alors un maximum, puis s'annulait finalement quand tout le sucre avait fermenté (fig. 7). C'est ainsi qu'ils ont découvert les levures qui présentent une électivité en faveur du fructose. Ils ont eu l'idée de prendre comme critère du « pouvoir électif », ou bien la différence entre la déviation optique initiale et la déviation maxima du milieu, ou bien le taux de cette différence par rapport à la déviation initiale. Désignons par A_0 la déviation initiale, A la déviation au cours de la fermentation et A_{max} la déviation maxima ; le taux ci-dessus s'écrit :

$$(14) \quad \tau = \frac{A_0 - A_{max}}{A_0}$$

D'après des considérations qui sont développées plus loin

(chap. III, § 3) on peut évaluer A_0 et A au moyen des concentrations des sucres restants et de leurs pouvoirs rotatoires ; — αf désignera celui du fructose ; + αg celui du glucose.

On a :

$$\begin{aligned} A &= \alpha g \cdot G - \alpha f \cdot F \\ A_0 &= \alpha g \cdot G_0 - \alpha f \cdot F_0 \end{aligned}$$

et si le mélange est du sucre interverti, le taux de la variation de la déviation optique, pour 100 de la déviation initiale, est égal à la fraction :

$$(15) \quad \frac{A_0 - A}{A_0} = \frac{\alpha g \frac{\Delta G}{G_0} - \alpha f \frac{\Delta F}{F_0}}{\alpha g - \alpha f}$$

Il est clair que $\tau = \frac{A_0 - A_{\max}}{A_0}$ est le maximum de l'expression (15). Et comme cette expression (15) s'exprime avec les variables $\Delta G/G_0$ et $\Delta F/F_0$ qui ont servi à construire le diagramme des déformations, il est logique de rechercher un élément géométrique de ce diagramme qui représente l'expression τ . Pour cela, remarquons que la différentielle de (15) s'annule pour les valeurs de $\Delta G/G_0$ et $\Delta F/F_0$ qui correspondent à $A_{\max}$, puisque τ est le maximum de cette expression (15). Donc :

$$0 = \alpha g \cdot \frac{d \Delta G}{G_0} - \alpha f \cdot \frac{d \Delta F}{F_0}$$

C'est-à-dire :

$$(16) \quad \frac{\alpha f}{\alpha g} = \frac{d \Delta G / G_0}{d \Delta F / F_0}$$

Mais, d'après (11), on voit que l'expression (16) n'est autre que la pente p_m de la tangente à la courbe représentative de la fermentation, au point M_m , dont les coordonnées sont précisément les taux $\Delta G/G_0$ et $\Delta F/F_0$, du glucose et du fructose au moment où la déviation du milieu atteint son maximum, $A_{\max}$. Si on suppose que τ est connu, la droite, D , définie par l'équation :

$$\tau (\alpha g - \alpha f) = \alpha g y - \alpha f x$$

où y est porté sur l'axe des $\Delta G/G_0$ et x sur l'axe des $\Delta F/F_0$, est la tangente à la courbe représentative au point M_m ; en effet, D , est parallèle à cette tangente d'après (16) et (11) et passe par M_m , d'après (16) également. L'ordonnée à l'origine de D est :

$$a = \tau \frac{\alpha g - \alpha f}{\alpha g}$$

Il en résulte immédiatement que plus τ sera grand, plus a sera grand ; et il est visible sur la figure (8) que plus a est grand,

plus la fermentation déformera le milieu. Le critère de Gayon et de Dubourg est excellent pour comparer les fermentations d'après la déformation qu'elles font subir au milieu.

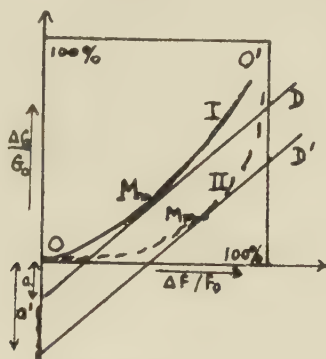


Fig. 8. — Diagramme de la déformation.

La droite, D, tangente à la courbe représentative de la fermentation élective, a une ordonnée à l'origine, a , proportionnelle à τ , critère de Gayon et Dubourg.

Passons maintenant à la théorie de MM. Willstätter et Sobotka. Ces auteurs supposent que le rapport des vitesses de fermentation de deux sucres en mélange, est à tout instant proportionnel au rapport des concentrations restantes de ces deux sucres, ce qui s'écrit, en désignant le coefficient de proportionnalité par k :

$$(17) \quad \frac{\frac{d. \Delta G}{dt}}{\frac{d. \Delta F}{dt}} = k \frac{G}{F}$$

Or, à l'instant initial de la fermentation, G/F est sensiblement égal à G_0/F_0 ; si on désigne par, V , le rapport des vitesses de fermentation, on a :

$$V = k \frac{G}{F}$$

Donc :

$$(V)_{t=0} = k \frac{G_0}{F_0}$$

Et par suite :

$$(18) \quad k = (V)_{t=0} \frac{F_0}{G_0}$$

En outre, l'équation (17) devient, en tenant compte des équations (1) :

$$\frac{\frac{dG}{dt}}{\frac{dF}{dt}} = k \frac{G}{F}$$

En intégrant cette expression, on obtient :

$$\text{Log } \frac{G}{G_0} = k \text{ Log } \frac{F}{F_0}$$

ce qui s'écrit encore, puisque G/G_0 et F/F_0 sont des variables toujours positives .

$$(19) \quad \frac{G}{G_0} = \left(\frac{F}{F_0} \right)^k$$

où k est un paramètre compris entre 0 et l'infini. Remarquons en outre, d'une part que G/G_0 et F/F_0 sont plus petits que 1, ou bien si on les exprime en fractions centésimales, c'est-à-dire en taux, que G/G_0 et F/F_0 sont plus petits que 100 %, et d'autre part que, si le mélange de sucre initial est du saccharose interverti, on a :

$$(20) \quad k = (V)_{t=0} \quad \text{Si } G_0 = F_0$$

Il est clair que l'hypothèse de M. Sobotka s'exprime *entièrement* et *naturellement* au moyen des taux de glucose restant pour 100 de glucose initial et de fructose restant pour 100 de fructose initial. Il en résulte que les courbes, qui représentent sur un diagramme des déformations la marche de plusieurs fermentations électives satisfaisant à cette hypothèse, appartiennent toutes à une famille de courbes qui dépend d'un seul paramètre le nombre k . En effet, désignons la quantité $1 - \Delta F/F_0$ par x ; et $1 - \Delta G/G_0$ par y ; d'après les formules (3), on a :

$$\frac{F}{F_0} = x \quad \text{et} \quad \frac{G}{G_0} = y$$

La formule (19) prend la forme bien connue :

$$y = x^k \quad \text{avec} \quad 0 < k < \infty \quad \text{et} \\ 0 < x < \frac{100}{100}$$

La figure (9) donne une représentation de cette famille de courbes, qui ont seulement deux points communs, l'origine O' et le point de coordonnées (1,1) : O . Pour retrouver le diagramme des déformations tel qu'il se trouve représenté sur la figure 6, il faut faire subir au plan des (x, y) de la figure (9) une rotation, comme il est indiqué sur la figure (10).

Il résulte du calcul précédent que deux courbes représentatives ne peuvent pas couper en plus de deux points O et O' , la diagonale OO' du diagramme (voir fig. 10) ; en particulier, aucune des courbes de cette famille ne coupe le segment OO' entre les points O et O' .

Nous allons montrer maintenant que la théorie de MM. Fern-

bach, Schoen et Mori se rattache de toute évidence à l'idée de déformation. En effet, ces auteurs étudiaient les fermentations électives de milieux renfermant des mélanges de deux sortes de sucre, aldoses et cétooses, en proportions quelconques. Ils ont comparé entre elles, non pas les courbes représentatives des variations de concentrations, mais les courbes représentatives des taux d'aldoses pour 100 d'aldoses fermentescibles et de cétooses pour 100 de cétooses fermentescibles, dans le milieu initial. Ceci revient à abandonner la considération des vitesses de fermenta-

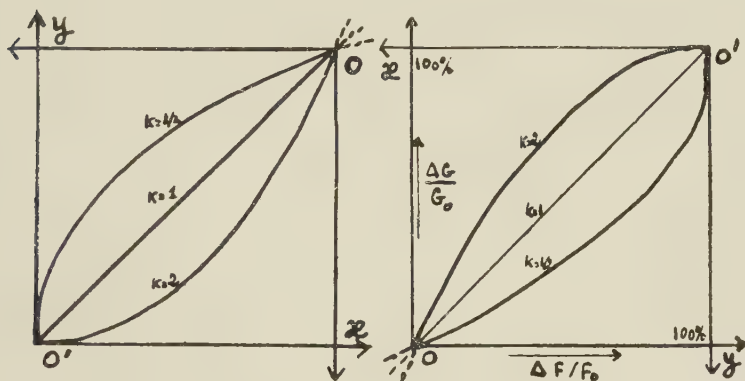


Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 9. — Courbes de la famille $y = x^k$, k étant continu.

Fig. 10. — Diagramme de la déformation.

Courbes représentatives des fermentations électives d'après MM. Willstätter et Sobotka.

Les Fig. 9 et 10 se superposent après une rotation.

tion proprement dites, pour celles des vitesses de variation de taux ; plus brièvement, et en employant les notations précédemment définies, ils ont considéré les u (10) et non les v (4). Il en résulte que si la courbe représentative de la fermentation des adolses est supérieure à celle des cétooses, sur leur diagramme des vitesses de taux, la fermentation est dite présenter une électivité en faveur des aldoses ; et inversement dans le cas contraire. Et comme les cétooses et les aldoses n'ont pas leurs concentrations initiales égales, la considération des u n'est pas équivalente à celle des v .

Cette définition de l'électivité n'est évidemment pas discutable, car toutes les définitions sont *a priori* raisonnables, pourvu qu'elles soient cohérentes. Mais il est permis de penser qu'elles ne sont pas équivalentes pour représenter les propriétés intrinsèques du phénomène auquel on les applique. Cette discussion fera l'objet du chapitre V.

§ 5. — Résumé et Conclusions.

Dans ce chapitre, nous avons donné une analyse logique des notions de fermentation élective et de pouvoir électif ; le raisonnement suivi comprend deux étapes : d'une part, la définition classique de l'électivité telle qu'elle ressort de la considération des quantités de sucre qui disparaissent au cours du temps, repose, non sur les vitesses de fermentation, mais sur les *vitesse moyennes* ; d'autre part, si on considère l'écart plus ou moins grand des deux courbes du diagramme des vitesses, ou bien si, avec Gayon et Dubourg et M. Schoen, on remarque que la courbe représentative de la déviation optique du milieu en fonction du temps a une forme en cloche plus ou moins accentuée suivant les fermentations électives considérées, on est conduit à dire que ces fermentations n'ont pas le même *pouvoir électif* ; nous avons proposé un moyen précis de ranger les fermentations dans l'ordre des pouvoirs électifs croissants, tout en étant l'exacte interprétation de la notion intuitive d'où on est parti. C'est notre diagramme des concentrations, auquel s'appliquent les règles suivantes :

Règles. — 1° La fermentation présente une électivité en faveur du glucose si la courbe représentative est située au-dessus de la bissectrice de l'angle des coordonnées de ce diagramme des concentrations ; cette électivité est en faveur du fructose dans le cas inverse.

2° Si deux fermentations présentent une électivité en faveur du glucose, celle dont la courbe représentative est située *au-dessus* de l'autre courbe, a un pouvoir électif plus prononcé que l'autre fermentation. Dans le cas où l'électivité des deux fermentations considérées est en faveur du fructose, la fermentation qui fait preuve du plus grand pouvoir électif est représentée par une courbe située *au-dessous* de la courbe de l'autre fermentation.

Certains auteurs ont préféré porter leur attention non sur les vitesses de fermentation, mais sur la déformation du milieu ; j'ai montré, par l'analyse du travail de MM. Fernbach, Schoen et Mori que cette notion revient à substituer les vitesses de taux de sucre consommé pour 100 du sucre initial ($\Delta G/G_0$ et $\Delta F/F_0$ et non $\Delta G/S_0$ et $\Delta F/S_0$) aux vitesses de fermentation proprement dites. Les considérations sur les vitesses de fermentation qui viennent d'être résumées, s'appliquent aux vitesses de taux, et les deux règles énoncées plus haut sont également applicables au diagramme de la déformation.

Il résulte d'expériences qui sont exposées au chapitre V, que

l'électivité ne saurait être convenablement interprétée par l'idée de déformation. Dès maintenant, nous allons faire une application de notre diagramme des concentrations au phénomène appelé « renversement de l'électivité » par M. Shoen ¹⁴ et ⁴¹ (1924) ; il suffit de jeter un coup d'œil sur la figure (11) pour se rendre compte que le renversement de l'électivité est caractérisé par le fait que la courbe représentative de ce phénomène *traverse* la bissectrice de l'angle des coordonnées, une partie de cette courbe étant située *au-dessus* de cette droite, et une autre partie au-dessous ; cette représentation est la traduction exacte de la définition de M. Shoen : le milieu renfermait, avant fermenta-

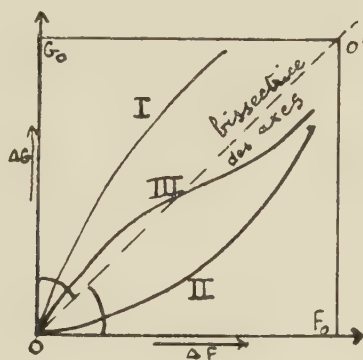


Fig. 11. — Diagramme des concentrations.

- I. Electivité en faveur du glucose.
- II. — — — fructose.
- III. Renversement de l'électivité au cours de la fermentation.

tion du sucre interverti ; le glucose disparaît, au début de la fermentation, plus vite que le fructose ; puis la marche de la fermentation se modifie et après un certain temps le milieu renferme autant de glucose que de fructose, exactement comme avant la fermentation ; et pour finir le fructose disparaît plus vite que le glucose. Or, il est évident (fig. 9 et 10) que, d'après la théorie de MM. Willstätter et Sobotka, la courbe représentative de la fermentation ne devrait pas *traverser* la diagonale du diagramme ; cette théorie est donc très discutable.

Toutefois, il faut observer que les deux façons de comprendre l'électivité aboutissent au même résultat, ou presque, quand le milieu renferme des quantités égales des deux sucres. On peut commodément le vérifier, car dans ce cas, le diagramme des concentrations est celui de la déformation, sur chacun desquels on a construit une courbe représentative de la même fermentation élective, sont deux figures semblables ; par contre, ces deux figures ne sont pas semblables si elles représentent les fermenta-

tions de deux milieux renfermant des concentrations différentes de sucre interverti, dont on a l'intention de comparer les pouvoirs électifs. Remarquons toutefois que, même dans ce cas, la courbe qui représente une fermentation sur le diagramme des concentrations, a même pente à l'origine que la courbe qui représente la même fermentation sur le diagramme des déformations. Donc, au début de la fermentation, l'ordre de classement des fermentations par pouvoir électif croissant est le même quel que soit le diagramme adopté. C'est pourquoi je crois qu'il faut réserver le nom d'électivité au cas où le milieu renferme des concentrations égales des deux sucres.

CHAPITRE III

MÉTHODES ANALYTIQUES

§ 1. — Généralités.

Pour suivre la marche d'une fermentation élective, on prend une série de petites bouteilles de 100 c³ et on introduit 75 c³ du milieu de culture dans chacune de ces bouteilles ; par suite, elles renferment toutes le même poids de sucre et d'éléments nutritifs nécessaires à la fermentation. Si on leur fait subir les mêmes opérations : stérilisation, ensemencement, addition de craie, on observe la même croissance des bacilles dans chacun de ces flacons ; et le liquide, qu'ils contiennent, fermente à la même vitesse.

On peut donc suivre la marche de la fermentation en dosant les sucres restants dans chaque bouteille à des moments différents et convenablement choisis. Si on étend à 100 c³ le contenu de chaque bouteille, on peut déterminer les poids des substances dosées contenues dans le flacon tout entier, indépendamment de la concentration où ces substances se trouvaient avant qu'on ait étendu le contenu du flacon à 100 c³. Il faut opérer ainsi parce que, si on avait mesuré les concentrations de sucre du milieu en fermentation, on aurait de petites erreurs dues au fait que le volume du liquide n'est pas exactement le même dans tous les flacons : il se produit, en effet, des évaporations et des condensations dans l'autoclave, et durant le séjour plus ou moins prolongé dans l'étuve à 37°, où a lieu la fermentation.

Toutefois, les modifications de concentration, énumérées ci-dessus, sont très petites, et il est possible de calculer les concentrations des substances dosées telles qu'elles se trouvent dans le milieu en fermentation avant que celui-ci ait été étendu à 100 c³. En effet, ce milieu a un volume très voisin de 85 c³, car on a introduit dans chaque bouteille 75 c³ de bouillon de culture et 10 c³ d'une suspension de craie. Il suffit de multiplier les concentrations du liquide analysé par $\frac{100}{85}$ pour avoir celles du milieu qui a fermenté, — à très peu de chose près.

§ 2. — Dosage des sucres.

Le sucre total a été dosé de la manière suivante :

Suivant la concentration des sucres dans le milieu, on prend 5 ou 10 c³ de la solution à analyser, on ajoute 5 c³ de sulfate de zinc n/2, puis 0,50 c³ de soude normale dans un ballon jaugé en pyrex de 50 c³, et on chauffe doucement pour obtenir une ébullition en 2-3 minutes ; on refroidit rapidement et on étend à 50 c³ ; 10 c³ du filtrat et 10 c³ d'eau, ou bien 20 c³ de filtrat sont prêts pour être analysés par la méthode Bertrand. Si on n'avait pas éliminé, par ce procédé, les matières azotées et la majeure partie du calcium dissous au cours de la fermentation, ces corps formeraient des gommages avec les réactifs de Bertrand, qui colmatent rapidement le filtre. Ce procédé est inspiré de celui que Hagedorn emploie pour son micro-dosage de sucre dans le sang ; mais on ne peut pas se borner à multiplier les concentrations des réactifs très dilués de Hagedorn par un même coefficient ; la liqueur obtenue serait trop alcaline, ce qui altérerait le sucre ; on a évité cet inconvénient en mettant un grand excès de solution titrée de sulfate de zinc, qui a été obtenue en neutralisant une solution normale d'acide sulfurique par du carbonate de zinc ; on filtre, on lave et on étend le tout à un volume double de l'acide sulfurique initial ; le titre de la solution de zinc est bien n/2. On achève de standardiser le procédé en utilisant les mêmes quantités de liquide pour analyser toutes les bouteilles de la même série.

Il faut remarquer que la présence de matières azotées comme les peptones diminue la réduction du sel de cuivre, ce qui fausse les résultats obtenus avec le dosage standardisé de Bertrand ; dans les milieux de culture que nous avons utilisés, on trouve toujours un écart de — 2 % à — 3 %. Ce fait est connu ; il est attribué au fructose, puisque le dosage des solutions de glucose n'est pas modifié par la présence des peptones. Aussi, tous les résultats de nos expériences sont exprimés au moyen des concentrations des sucres *disparus*, ou de leurs taux, c'est-à-dire par la différence entre la concentration *trouvée* par le dosage d'une bouteille témoin qui n'a pas fermenté et la concentration mesurée, dans le milieu qui a fermenté.

Le glucose est dosé par une méthode due à Willstätter : ce sucre, comme tous les aldoses, est oxydé quantitativement par une solution d'hypoiodite pour donner l'acide correspondant, si les concentrations des réactifs sont convenables, le glucose, par exemple, donne l'acide gluconique. On prend 10 c³ de solution sucrée et neutre, qui ne contient pas plus de 1 % d'aldose ;

nous conseillons même de ne pas dépasser 0,5 % ; on ajoute 20 c³ d'une solution d'iode n/10, puis on verse rapidement 30 c³ de soude n/10 ; on abandonne 5 minutes après avoir agité ; on verse alors un large excès d'acide sulfurique à 5 % et on titre l'excès d'iode par une solution d'hyposulfite ; 1 c³ de la solution d'iode n/10, utilisée par l'oxydation, correspond à 9 milligrammes de glucose. Toutefois, le fructose s'oxyde légèrement ; si 1 gramme de glucose correspond à 1 gr. 41 d'iode, 1 gramme de lévulose correspond à 0,1 d'iode ; donc 2 grammes de sucre interverti correspondent à 1 gr. 51 d'iode ; si j'exprime le résultat de l'oxydation en glucose, ce chiffre multiplié par $\frac{1,41}{1,51} = 0,933 = \frac{23,3}{25}$ donnera le poids réel de glucose dans la solution de sucre interverti.

Si le lactate n'est pas oxydé par ces réactifs, il n'en est pas de même des matières azotées, et de certains produits volatils des fermentations. Ces derniers peuvent être éliminés en faisant bouillir le milieu. Quant aux matières azotées, elles sont adsorbées par la norit à raison de 0,400 gr. pour 37 c³ du milieu. La quantité de glucose dosée par ce procédé sur une bouteille témoin ne s'écarte pas plus de 2 ou 3 % de la quantité de glucose dissoute dans le milieu, que l'on peut connaître avec précision. Aussi, dans les résultats qui vont suivre, nous donnerons les concentrations, — ou les taux de sucre disparu, c'est-à-dire les différences entre la concentration trouvée par le dosage du milieu initial et les concentrations mesurées dans le milieu en fermentation ; c'est la réplique du procédé indiqué plus haut pour mesurer le sucre total disparu.

La différence entre le sucre total disparu et le glucose disparu donne le fructose disparu.

§ 3. — Contrôle du milieu et des résultats d'analyse par la déviation optique observée au polarimètre.

On sait que la déviation du plan de polarisation d'une radiation monochromatique par un liquide non-optiquement actif, comme l'eau, est due aux substances dissoutes ; en général, la déviation observée est la somme des déviations que l'on observerait si chacune des substances dissoutes était seule dans le solvant. Parmi les substances actives du milieu de culture, il y a les sucres et les matières azotées ; ces dernières sont fortement dextrogyres ; si le sucre a fermenté partiellement, il y a aussi le lactate de calcium. L'expérience montre que l'on peut éliminer les matières azotées, en les faisant adsorber par la norit,

comme on l'a vu précédemment à propos du dosage du glucose par iodométrie. Le filtrat obtenu contient seulement les sucres, et le lactate de calcium si le milieu a fermenté.

Il en résulte, d'abord, qu'on peut contrôler l'altération que subit le mélange des sucres pendant la stérilisation du milieu de culture, en mesurant la déviation optique sur une bouteille témoin, qui n'a pas fermenté ; ce nombre ne doit pas s'écarter de plus de 2 ou 3 minutes de la déviation, que l'on peut calculer à partir de la concentration du saccharose interverti, qui entre dans la composition du milieu, et que l'on connaît exactement. Les expériences relatées plus loin ont toujours été exécutées sur des milieux dont le mélange de sucre était pratiquement non altéré. La variation de la déviation du milieu, épuré à la norit, au cours de la fermentation, permet de contrôler les résultats fournis par l'analyse chimique du milieu ; en effet, si on connaît les concentrations du glucose et du fructose disparus et la concentration du lactate de calcium formé, il est facile de calculer la variation et la déviation optique du milieu au cours de la fermentation ; cette variation calculée doit différer très peu de la différence entre la déviation du milieu avant la fermentation et sa déviation en cours de fermentation, si ces diverses mesures sont correctes.

Mais on peut procéder autrement : si on ajoute au milieu dé-féqué à la norit, une quantité d'acide sulfurique ou oxalique suffisante pour neutraliser le calcium en solution, avec un petit excès, on précipite le calcium et on peut extraire l'acide lactique à l'éther (1). Le résidu d'extraction contient donc presque exclusivement les sucres restants, puisqu'on a enlevé successivement les matières azotées, le calcium et l'acide lactique ; il suffit d'évaporer l'éther, en insufflant de l'air dans ce résidu, pour avoir la déviation optique due aux seuls sucres restants, compte tenu des dilutions, bien entendu ; les méthodes chimiques permettent de connaître les concentrations de ces sucres ; nous avons préféré les calculer au moyen de la relation, en faisant la différence entre la concentration initiale du glucose (ou du fructose) et la concentration de ce sucre qui a disparu. Les résultats ci-après montrent la précision des méthodes de dosage ; le pouvoir rotatoire du fructose est : — $101^{\circ}38 + 0^{\circ}532 t$, ce qui donne $10',76$ pour une concentration de $1^{\circ}/_{\infty}$ de fructose à 26° observée dans un tube de 2 décimètres et celui de glucose est $+ 52^{\circ}43$, ce qui donne $6',28$ pour une concentration de $1^{\circ}/_{\infty}$ observée dans les mêmes conditions.

(1) Comme le coefficient de partage de l'acide lactique entre l'eau et l'éther est voisin de $1/6$, nous avons épuisé un certain volume de notre liquide par un volume d'éther 40 fois plus grand, ce qui est aisé dans un appareil à extraction continue.

		Déviatiou du résidu	Déviatiou calculée
Première expérience	0 jour	»	— 1°50
— —	2 —	— 2°12	— 2°38
— —	4 —	— 3°40	— 3°26
— —	8 —	— 3°46	— 2°91
— —	20 —	— 2°85	— 2°81

En prolongeant la durée d'extraction jusqu'à 15 heures, on obtient les résultats suivants :

2 ^e expérience.....	0 jour	— 1°39	— 1°46
—	4 —	— 1°66	— 1°68
—	14 —	— 2°07	— 2°08
3 ^e expérience.....	0 jour	— 0°76	— 0°80
—	5 —	— 1°75	— 1°70
—	20 —	— 0°94	— 0°94
4 ^e expérience.....	0 jour	— 0°76	— 0°79
—	6 —	— 1°16	— 1°12
—	11 —	— 1°40	— 1°36

§ 4. — Mesure du pouvoir rotatoire du lactate.

On sait que, si le pouvoir rotatoire de l'acide lactique est droit, celui du lactate correspondant est gauche et inversement, et que le pouvoir rotatoire des lactates varie beaucoup avec leur concentration, pour la même lumière monochromatique ; aussi on a coutume, pour obtenir des chiffres comparables entre eux, d'observer la déviation optique du sel de zinc à la concentration de 2 %. Or, dans les calculs mentionnés au paragraphe précédent, on a besoin de connaître le pouvoir rotatoire du lactate de calcium à des concentrations variables ; mais, si on tient compte du fait que le pouvoir rotatoire des lactates est toujours très petit vis-à-vis de celui des sucres, et que les différents lactates ont approximativement le même pouvoir rotatoire, on peut adopter le pouvoir rotatoire du lactate de zinc en solution à 2 % sans commettre une erreur notable dans les calculs du paragraphe précédent.

Le lactate de zinc a été préparé de la manière suivante ; le milieu défectué à la norit (400 milligrammes pour 37 c³ du milieu de culture) et acidifié par l'acide sulfurique ou l'acide oxalique en quantité suffisante pour précipiter le calcium, avec un

très léger excès, est introduit dans un appareil à extraction continue, et épuisé à l'éther ; la solution d'acide lactique dans l'éther tombe sur de l'eau, où cet acide se dissout, tandis que l'éther est évaporé, puis condensé et qu'il retourne au contact du milieu à épuiser. Après 10 ou 15 heures, suivant la richesse du milieu en acide, on démonte l'appareil, on chauffe pour évaporer l'éther ; comme l'acide est dissous dans l'eau, on est sûr de ne pas le lactoniser ; ensuite on ajoute du carbonate de zinc, et on porte sur un bain-marie une dizaine de minutes pour hydrolyser l'acide lactyl-lactique et son sel de zinc ; on filtre, on lave à l'eau chaude, on étend à un volume connu et on observe la déviation au polarimètre.

Il est facile de vérifier si le milieu soumis à l'extraction a été entraîné par les bulles d'éther qui le traversent et est tombé dans la solution de l'acide lactique extrait ; dans ce cas, en effet, la solution d'acide lactique contiendrait un peu d'acide sulfurique et on pourrait le précipiter par le chlorure de baryum. Ce fait ne s'est jamais produit.

Un volume connu de la solution de lactate de zinc est évaporé à l'étuve à 30° dans un cristallisateur ; on chasse l'eau de cristallisation à l'étuve à 100° et on refroidit dans un siccateur (vide sulfurique) ; on pèse rapidement. On en déduit la concentration exacte, voisine de 2 % de la solution observée au polarimètre ; et on calcule le pouvoir rotatoire du lactate de zinc.

§ 5. — Dosage de l'acide lactique.

La méthode de dosage de l'acide lactique est due à Fürth et Charnass ²² ; elle a été perfectionnée par Friedmann et Mlle Cotonio ²⁷. En principe, on oxyde légèrement l'acide lactique par le permanganate ; il se décompose immédiatement et donne de l'aldéhyde que l'on distille à mesure de sa formation et que l'on combine avec une quantité connue de bisulfite de soude ; on titre l'excès de bisulfite par l'iode, en présence d'amidon soluble (Wolf). L'amélioration apportée par Friedmann consiste dans le choix du catalyseur du pH optimum et de la concentration du permanganate qui assure le meilleur rendement en aldéhyde de l'oxydation ménagée de l'acide lactique ²⁹ : le catalyseur employé est le sulfate de manganèse ; il transforme le permanganate en bioxyde de manganèse, lequel oxyde à son tour l'acide lactique ; le pH optimum est voisin de 2 ; la concentration du permanganate ne doit pas dépasser $n/20$.

Friedmann a étudié également la cinétique de la formation du composé bisulfitique de l'aldéhyde ²⁹ : la réaction serait réver-

sible et la vitesse de combinaison beaucoup plus grande que la vitesse de dissociation, ce qui explique qu'on puisse doser l'excès de bisulfite sans détruire la combinaison bisulfite d'une manière appréciable. En outre, il est bon d'avoir 2 ou 3 c³ de bisulfite en excédent pour favoriser la formation de ce composé. Traedwell donne une étude chimique de la réaction du bisulfite sur l'iode en solution (I₃K) : cette réaction n'est quantitative que pour des concentrations de SO² inférieures à 0,04 %, si on verse l'iode dans le bisulfite ce qui est notre cas : il faut donc diluer 10 c³ de bisulfite n/10 dans 200 à 300 c³ d'eau distillée pour se trouver dans les conditions voulues.

On met dans un ballon de 1.000 c³, 2 grammes d'acide sulfurique, 3 grammes de sulfate de manganèse et la solution de lactate à doser, qui doit être neutre, non tamponnée et renfermer 30 milligrammes d'acide environ, avec 400 c³ d'eau ; on fait bouillir. Le tube de verre qui conduira l'aldéhyde, après sa condensation dans un réfrigérant, doit plonger dans le fond d'une éprouvette contenant 40 c³ d'eau environ ; cette éprouvette est fermée avec un bouchon traversé par un compte-bulle ; on règle le chauffage et le courant d'eau du réfrigérant pour qu'il y ait une dépression dans l'appareil, durant toute l'opération ; ainsi on est sûr de ne pas perdre d'aldéhyde. On verse alors seulement, le permanganate en solution n/20 jusqu'à ce qu'il reste un excès de permanganate dans le ballon ; on continue de distiller de l'eau pour entraîner tout l'aldéhyde ; on recueille environ 200 c³ d'eau ; à ce moment, on démonte l'appareil, on lave le compte-bulle, on joint les eaux de lavage au distillat ; on verse 10 c³ de bisulfite n/10, très frais et titré au moment de l'emploi, on bouche et on agite plusieurs fois pendant un quart d'heure. Puis on titre à l'iode l'excès de bisulfite.

Friedmann ¹⁷⁻¹⁸ et Mlle Cotonio ¹⁷ ont fait une étude très complète de l'influence des impuretés sur ce dosage ; les matières azotées diminuent le rendement de 5 % seulement, ce que nous avons vérifié avec la peptone de caséine. Par contre, les sucres, le fructose, surtout, et pas mal de produits accessoires des fermentations, comme l'acide β dihydroxybutyrique peuvent fausser complètement le dosage car ils donnent naissance à des corps qui réagissent sur le bisulfite, l'aldéhyde formique, par exemple. Friedmann montre que la méthode de Salkowski convient parfaitement pour éliminer toutes ces impuretés : on prend 5 ou 10 c³ du milieu de culture, suivant sa teneur en acide lactique, on ajoute 10 c³ de solution de sulfate de cuivre à 4 % et une goutte de rouge de phénol dans un ballon de 50 c³ ; on verse, en agitant fortement, un lait de chaux dilué jusqu'à ce que le liquide vire

complètement du vert pomme au bleu violacé : ensuite, il faut compléter à 50 c³, agiter plusieurs fois durant une demi-heure et filtrer ; 25 c³ du filtrat sont prêts pour être analysés.

On peut également doser la quantité totale des acides formés et les évaluer en acide lactique ; il suffit de mesurer le calcium dissous par l'action de ces acides sur la craie, puisque les sels de calcium des acides organiques sont solubles dans les conditions de l'expérience. Pour cela, on fait bouillir un volume connu du milieu de culture pour décomposer le bicarbonate, on filtre et on précipite le calcium par l'oxalate d'ammonium, suivant la technique de Traedwell. On filtre l'oxalate de calcium, sur papier Chardin, on lave très soigneusement, on dissout l'oxalate en jetant quatre fois sur le filtre 10 c³ d'acide sulfurique bouillant à 5 %, puis de l'eau ; le filtrat est amené à 200 c³ environ ; on ajoute quelques gouttes de sulfate de manganèse pour catalyser l'oxydation de l'acide oxalique ; on chauffe à 60° et on verse le permanganate ; quand le liquide est rose, on jette le filtre dedans, on agite et on ramène au rose par quelques gouttes de permanganate. Ainsi on est sûr de ne pas oxyder le papier de manière appréciable.

CHAPITRE IV

QUELQUES EXEMPLES DE FERMENTATIONS LACTIQUES ÉLECTIVES

§ 1. — Milieu de culture.

Pour préparer un litre de bouillon de culture on prend une solution de sucre interverti de concentration connue, on y ajoute 3 grammes de peptone de caséine, 0 gr. 500 de phosphate monopotassique, et une décoction de haricot, obtenue en faisant bouillir pendant une à deux heures dans un litre d'eau 200 grammes de haricots blancs et bien lavés, de manière que le volume se réduise des trois quarts pendant l'ébullition ; il faut avoir une ébullition assez agitée.

Ce milieu contient les matières sucrées, azotées et minérales, nécessaires à la fermentation lactique ; il est amené à pH 5, réparti dans les flacons de 100 c³ à raison de 75 c³ par flacon, et maintenu à 115° pendant 5 minutes ; il faut que les bouteilles restent le moins de temps possible dans l'autoclave. On atténue ainsi les pertes de sucre, et on a une stérilisation parfaite, puisque le milieu est acide.

Avant l'ensemencement, on amène le milieu à pH 7,2 en ajoutant, aseptiquement le nombre voulu de gouttes de soude normale stérilisée à 100° pendant 10 minutes.

Le saccharose, en solution à 10 % ou 15 %, a été interverti comme suit : on fait chauffer la solution sur un bain-marie bouillant ; on ajoute ensuite 2 % d'acide chlorhydrique à 36 % (commercial) et on porte le tout sur le bain-marie pendant 10 minutes en agitant, 15 minutes si la solution contient plus de 10 % de saccharose ; on refroidit ensuite rapidement ; le liquide obtenu est clair parce qu'il ne contient pas de corps de la série du furfurole provenant de l'attaque du fructose par l'acide chlorhydrique. On neutralise enfin cette solution avec du carbonate de sodium, en agitant pour éviter l'altération du fructose et du glucose par les alcalis.

§ 2. — Culture.

Il faut ajouter au milieu de culture une suspension de craie (carbonate de calcium précipité) dans 10 c³ d'eau, pour neutraliser l'acide lactique à mesure de sa formation. Cette suspension a été stérilisée au préalable pendant une demi-heure à 125°. On ne peut pas ajouter la craie au milieu et stériliser le tout ensemble, parce qu'il serait impossible de tuer les germes situés à l'intérieur des particules de craie, sans altérer les sucres, et sans précipiter les phosphates du milieu à l'état de phosphate tricalcique. Il y a même quelques inconvénients à ajouter la craie avant l'ensemencement ; d'une part, ce procédé n'assure pas une parfaite régularité de développement entre les différentes bouteilles, car la craie renferme une petite quantité de chaux qui précipite une partie des phosphates ; d'autre part, il peut arriver qu'il n'y ait pas de fermentation du tout, si les phosphates sont entièrement précipités, alors que le même bouillon permet un très gros développement bactérien quand on n'y ajoute pas de craie ; dans ce cas, il suffit d'ajouter quelques gouttes d'une solution stérilisée de phosphate à pH 7, pour que le milieu fermente rapidement.

On évite ces inconvénients en introduisant la craie 14 heures après l'ensemencement du milieu de culture, quand la masse des bacilles est entièrement formée, et qu'il y a une quantité négligeable de sucre fermenté ; la marche de la fermentation est alors parfaitement homogène d'une bouteille à l'autre, dans la même série. On prend comme instant initial de la fermentation, le moment où on a ajouté la craie au milieu de culture.

§ 3. — Bacille 30 et *Streptococcus V* (Mazé).

Ces deux bacilles appartiennent à la catégorie des vrais ferments lactiques. En effet les quantités de calcium et d'acide que nous avons dosées séparément et évaluées en acide lactique se neutralisent exactement, à la précision du dosage de l'acide lactique près, et ce poids d'acide lactique formé est égal à celui du sucre disparu, à très peu près. Le terme : rendement de la fermentation, servira à désigner le taux d'acide formé pour 100 de sucre consommé. Avec le bacille 30, nous avons obtenu les résultats suivants :

	Rendement d'après le dosage de l'acide lactique	Rendement d'après le dosage du calcium
3 jours	99 %	"
7 —	95 %	"
8 —	96 %	100 %
et avec le Streptococcus V :		
4 jours	99 %	"
6 —	98 %	99 %

Le bacille 30 produit de l'acide lactique gauche, le Streptococcus V, de l'acide droit.

Le Streptococcus V se développe très bien dans le lait, mais très mal dans le bouillon de haricot, et de peptone de caséine, où nous n'avons pas pu le conserver vivant plus de 15 jours de suite, même en le repiquant toutes les 24 heures ; en désespoir de cause, les bouteilles servant à suivre la fermentation ont étéensemencées avec une lignée qui avait subi trois passages seulement sur notre bouillon de haricot. Le Bacille 30 très vigoureux n'a donné lieu à aucune difficulté quand la concentration des phosphates en solution a été suffisante.

La marche de la fermentation élective du B. 30 a été résumée dans le tableau (1) ; celle du S. V., dans le tableau (2).

Tableau 1. — Bacille 30

	Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du milieu épuré à la norit (Déviation initiale — 1°39)
	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
7 heures	9,8 %	6,3 %	3,5 %	— 1°39
24 —	31 %	18,2 %	12,7 %	— 1°06
48 —	50,5 %	27,5 %	22,7 %	— 0°75
5 jours.....	80 %	41 %	39 %	— 0°32

Tableau 2. — Streptococcus V

	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Déviation initiale — 1°36)
2 jours.....	8,6 %	6,2 %	2,4 %	— 1°48
4 —	16,7 %	11,0 %	5,6 %	— 1°55
6 —	21,2 %	13,2 %	8,0 %	— 1°90
8 —	21,8 %	13,4 %	8,3 %	— 1°73

Comme le rapport des vitesses de fermentation est voisin de 2, au début de la fermentation, valeur la plus couramment trouvée par les auteurs, nous sommes conduits à qualifier de *moyens* les pouvoirs électifs du B. 30 et S. V. Une étude plus complète du B. 30 fera l'objet du chapitre suivant.

§ 4. — *Thermobacterium lactis* et β coccus bovis.

Deux autres microbes, le *Thermobacterium lactis* et β coccus bovis ont été étudiés de la même façon ; le *Thb. lactis* produit de l'acide lactique gauche, le β coccus bovis, de l'acide droit ; ces deux ferments ont une électivité si marquée pour le glucose qu'ils fermentent à peine le fructose. Le premier est un vrai ferment lactique ; le rendement de sa fermentation est voisin de 100 % ; le β coccus bovis, au contraire, donne des produits accessoires. Les rendements des fermentations sont donnés plus loin au chapitre VII, avec les conclusions que l'on doit tirer de l'étude de leur variation.

Nous³² avons fait deux expériences pour chaque ferment, l'une sur un milieu contenant, 4,5 % de sucre interverti, l'autre sur un milieu contenant 2,5 % de ce sucre, compte tenu de la dilution apportée par l'addition de la suspension de la craie. Les deux fermentations sur le milieu renfermant 2,5 % de sucre ont été conduites comme les précédentes, avec cette différence que la suspension de la craie a été ajoutée 16 heures après l'ensemencement, pour les raisons qui ont été données au paragraphe (2) de ce chapitre,

Les tableaux (3) et (5) sont relatifs au *Thb. lactis*.

Les tableaux (4) et (6) sont relatifs au β coccus bovis.

L'étude de ces deux ferments conduit aux observations suivantes :

1^o Le fructose a été fermenté en quantités notables durant la fermentation du glucose, c'est-à-dire durant les quatre premiers jours, quand la concentration du mélange initial est de 2,5 %, tandis que la fermentation du fructose est à peu près nulle durant la même période des deux-quatre premiers jours, quand la concentration initiale est de 4,5 %. De toute évidence, l'électivité est moins prononcée quand la concentration initiale des sucres est plus faible.

2^o Dans le milieu contenant 4,5 % de sucre, la fermentation s'arrêtait quand il ne restait plus de glucose, et s'attaquait faiblement au fructose restant ; à 2,5 % de sucre initial, le fructose a fermenté en quantités notables après la disparition du glucose. Les déviations optiques confirment les résultats de l'analyse chimique.

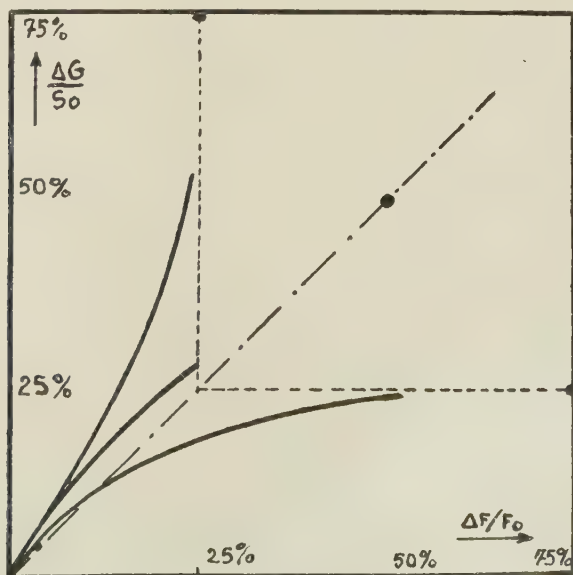
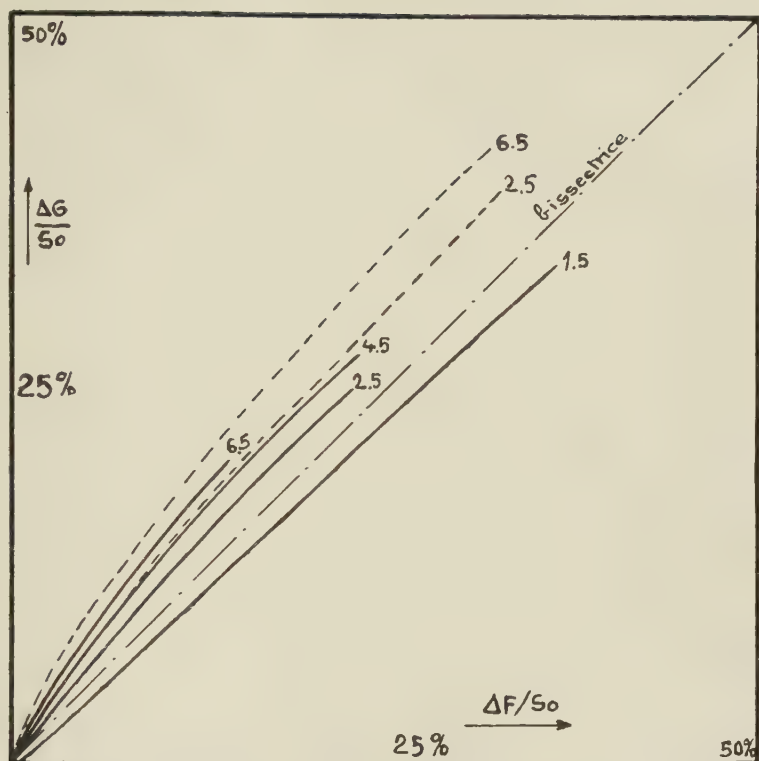


Tableau 3. — *Thermobacterium lactis*
Milieu contenant 4,5 % de sucre et de la craie

	Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du milieu épuré à la norit (Déviation initiale — 1°46)
	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
2 jours.....	22 %	21,8 %	0 %	— 2°16
4 —	46 %	45 %	1,1 %	— 3°10
8 —	56 %	48 %	7,8 %	— 3°20
29 —	57,8 %	(45)	(12,8)	— 2°90
46 —	54,3 %	47,5 %	6,8 %	— 3°21

Tableau 5. — *Thermobacterium lactis*
Milieu contenant 2,5 % de sucre et de la craie

	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Déviation initiale — 0°76)
2 jours.....	26 %	25,3 %	0,27 %	— 1°33
3 —	43 %	39,5 %	3,5 %	— 1°60
5 —	53,5 %	47,6 %	5,1 %	— 1°66
8 —	56 %	48,6 %	8,4 %	— 1°45
20 —	72 %	47,5 %	24,5 %	— 0°76

Les diagrammes (1) et (2) donnent une représentation graphique de ces faits. Ce sont des diagrammes des taux ; ils indiquent donc la *déformation* du milieu.

§ 5. — Influence du pH sur l'électivité du *β coccus bovis* et du *Thb. lactis*.

Pour étudier l'influence du pH sur l'électivité, nous avons exécuté deux expériences où les flacons n'ont pas reçu la suspension de craie, de sorte que le milieu est devenu de plus en plus acide, jusqu'à ce que la fermentation se soit arrêtée, ce qui s'est produit très rapidement, car le milieu était peu tamponné et atteignait très vite un pH assez bas.

La préparation du milieu de culture a été adaptée aux nécessités de cette fermentation ; d'abord le milieu ne renfermait que 3 % de sucre, pour que les taux de sucre consommé soient plus importants pour une même concentration de sucre disparu ; ensuite, le milieu a été amené à pH 7,2 *avant* la stérilisation. Aussi les sucres ont-ils été altérés sensiblement pendant cette

Tableau 4. — β coccus bovis
Milieu contenant 4,5 % de sucre et de la craie

	Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du milieu épuré à la norit (Déviation initiale — 1°39)
	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
2 jours.....	8,1 %	8 %	0,12 %	— 1°66
4 —	13 %	(10)	(3)	— 1°91
14 —	26 %	23,2 %	2,8 %	— 2°35
34 —	54,5 %	45 %	9,5 %	— 2°90

Tableau 6. — β coccus bovis
Milieu contenant 2,5 % de sucre et de la craie

	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Déviation initiale — 0°76)
4 jours.....	32,1 %	25,7 %	6,4 %	»
6 —	45,9 %	(33,9)	(12)	— 1°40
11 —	55,5 %	44 %	12 %	— 1°66
16 —	61,2 %	45,5 %	15,6 %	— 1°60
30 —	72,0 %	44,3 %	27,6 %	— 1°03

stérilisation, comme le prouve la déviation optique, qui aurait dû être de — 0°88 d'après la concentration de sucre interverti qui est entré dans la composition du milieu, alors que la déviation mesurée a été seulement de — 0°61. Toutefois, les mesures chimiques montrent que cette altération est très peu importante. Il ne pouvait être question, en effet, de neutraliser le milieu après stérilisation, parce que le moindre écart entre les quantités de soude versée dans les différentes bouteilles pouvait détruire l'homogénéité de la fermentation dans ces bouteilles, et parce que cette opération aurait enlevé toute précision à la mesure, par titration, de l'acidité produite.

Il faut ajouter qu'il est devenu indispensable de faire bouillir le liquide sucré avant de doser le glucose par iodométrie, à cause des nombreux produits accessoires qui se sont formés.

Les résultats de la fermentation du Thb. lactis ont été résumés dans le tableau (7) ; ceux relatifs au β coccus bovis, dans le tableau (8) ; on peut constater l'importance prépondérante des produits autres que l'acide lactique qui résultent de la fermentation provoquée par le β coccus.

Tableau 7. — Thermobacterium lactis
Milieu sans craie

	Poids de sucre consommé % du mélange initial			Rende- ment en acide lactique dosé par acidimé- trie	p H (p H initial 7,4)	Déviation du milieu épuré à la norit (Déviation initiale — 0°61)
	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$			
1 jour	6,2 %	5,95 %	0 %	93 %	4,1	—0°80
2 —	15,5 %	14,1 %	0,4 %	97 %	3,4	—0°93
6 —	22 %	21,3 %	0,7 %	100 %	3,2	—1°16

Tableau 8. — β coccus bovis
Milieu sans craie

	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$		(p H initial 7,4)	(Déviation initiale — 0°61)
17 heures	3,4 %	3,0 %	0,4 %	81 %	5,65	—0°66
40 —	5,8 %	4,95 %	0,8 %	95 %	4,2	—0°80
6 jours	7,5 %	5,05 %	2,5 %	68,6 %	4,4	—0°90
16 —	16 %	12,1 %	3,9 %	36,8 %	4,4	—0°96

On voit qu'il n'y a aucune influence du pH sur l'électivité des ferments lactiques étudiés.

§ 6. — Fermentation d'une solution de saccharose interverti par des bacilles lactiques lavés, en présence de craie.

Les bacilles lactiques sont particulièrement adaptés à ce genre d'expériences : on verra au chapitre V (§ 3) que, même dans les conditions de culture ordinaire, ces bacilles se comportent un peu comme des « resting bacteria ». Au début, ils se multiplient, très vite, en plus ou moins grand nombre, sans produire une quantité appréciable d'acide lactique, puis leur multiplication cesse brusquement et ils font fermenter les sucres avec une vitesse constante. Le nombre des bacilles dépend étroitement de la quantité et de la qualité des matières azotées et des sucres qui leur sont offerts : l'addition de 1 % de lait stérilisé dans un bouillon de haricot suffit à doubler et à tripler la masse de bacilles produits ; d'autre part, si le milieu n'a pas bouilli assez violemment pour amollir les haricots, les bacilles se développent très peu ; donc, on ne saurait parler de *nombre limite* comme Brown l'a fait pour les levures, sinon d'une manière tout à fait relative

à un milieu déterminé par son *histoire*, et qu'il n'est pas très facile de reproduire identique à lui-même.

Cette fermentation a été conduite de la manière suivante : on verse le milieu de culture stérilisé dans des vases de centrifugeuse que l'on a flambés au préalable ; on ensemence et, 24 heures après, on centrifuge ; on lave deux fois de suite les bacilles avec une solution stérile de NaCl à 6 ‰ contenant quelques gouttes d'une solution de phosphate ajustée à pH 7, 3, de manière que les bacilles soient constamment dans un liquide neutre. La réussite de l'opération dépend uniquement du pH des liquides où on met les bacilles en suspension. On ajoute ensuite une solution de sucre, puis une suspension de craie. Il est facile de mesurer avec exactitude, la quantité de sucre introduite en pesant le liquide versé. Cette solution de sucre a été stérilisée à pH 5, puis neutralisée par quelques gouttes de phosphate amené à pH 7,3 avant d'être mise au contact des bacilles. L'analyse de ce milieu ne présente, évidemment, aucune difficulté.

Nous avons étudié, par ce procédé l'électivité du B. 30 ; le milieu contenait 5 % de sucre interverti, compte tenu du volume de la suspension de craie. Les résultats ont été réunis dans le tableau (9) ; ils sont identiques à ceux qui concernent la fermentation d'un milieu de culture contenant du sucre interverti (§3). Dans les deux cas, le rapport des vitesses de fermentation est voisin, au début de la fermentation, de 1,5.

Tableau 9
Fermentation par les cellules lavées de B. 30

	S _o = 51,5			Quantités de sucre disparu % du mélange initial			Déviati du milie (Déviation initiale — 1°82)
	Quantités de sucre disparu en grammes par litre			Sucre $\frac{\Delta S}{S_o}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_o}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_o}$	
	Sucre ΔS	Glucose ΔG	Fructose ΔF				
24 heures	5,5	3,3	2,2	10,7 %	6,4 %	2,2 %	— 1°80
48 —	9,5	5,6	3,9	18,5 %	10,9 %	3,9 %	— 1°50
72 —	18,5	10,5	8,0	35,4 %	20,4 %	15 %	— 1°20

Le fait important est que la fermentation du sucre interverti produit de l'acide lactique gauche presque pur, quelle que soit la façon dont on a conduit la fermentation. Ce n'est pas

du tout évident, puisque M. Neuberg et Mlle Kobel ³⁴ ont montré que les extraits de levures séchés dismutent le méthyl-glyoxal en acide lactique racémique, alors que les cellules de levures fraîches ou séchées transforment ce méthyl-glyoxal en acide d (—) lactique ; il était nécessaire de voir si le pouvoir rotatoire de l'acide lactique formé ne varierait pas suivant la manière de conduire la fermentation.

CHAPITRE V

ÉTUDE D'UNE FERMENTATION LACTIQUE ÉLECTIVE

§ 1. — Variation de l'électivité des ferments lactiques avec la concentration initiale en sucre interverti du milieu.

Les ferments lactiques, que nous avons étudiés, ont un pouvoir électif variable avec la concentration initiale du milieu en sucre interverti : cela résulte des expériences faites sur le *Thb. lactis* et le β *coccus bovis* (chap. IV). Ici, nous étudierons systématiquement ce phénomène sur le B. 30 et nous verrons qu'il présente la propriété suivante : son électivité est en faveur du glucose dans les milieux de culture habituels, et en faveur du fructose pour une concentration suffisamment faible du sucre interverti.

Le même bouillon de haricot et la même solution de NaCl et de sucre interverti, ont servi à préparer plusieurs séries de bouteilles de milieu de culture, chaque série de bouteilles renfermant une concentration de sucre bien définie. Toutes ces séries étaientensemencées, en même temps, avec la même souche de bacille. En outre le milieu de culture le moins sucré recevait une petite quantité de NaCl supplémentaire pour que sa concentration globale en NaCl soit la même que celle du milieu le plus sucré ; en effet, la solution de sucre interverti était *salée* puisqu'elle contenait l'acide chlorhydrique nécessaire à l'inter-version, puis neutralisée par du carbonate de sodium. La craie a été ajoutée 16 heures après l'ensemencement et la durée de la fermentation a été comptée à partir de ce moment.

Les résultats de ces expériences ont été groupés par séries dans le tableau (10) ; le diagramme des vitesses (3) représente quelques expériences ; le diagramme (4) est un diagramme des taux, semblable à celui de la déformation, comme je l'ai expliqué au chapitre II ; il résume toutes ces expériences. Nous comparerons donc des déformations ; en outre, comme le mélange initial des sucres est du sucre interverti, les conclusions relatives au début de la fermentation seront les mêmes que celles que l'on tirerait de la considération des vitesses de fermentation.

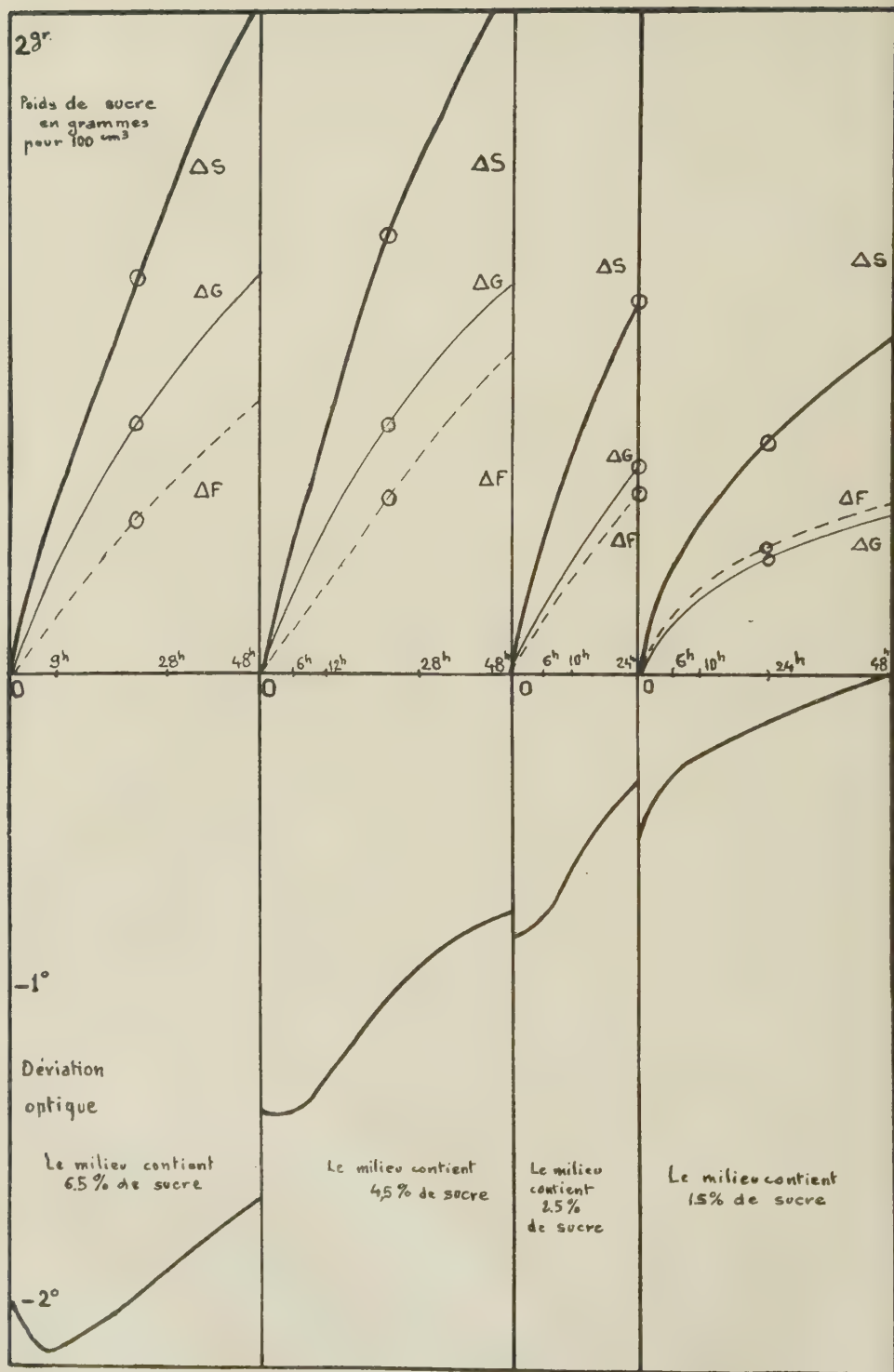


Diagramme 3. — Diagramme des vitesses. B. 30. Les expériences représentées sur ce diagramme sont celles de la deuxième série du tableau 10.

Tableau 10

Première série

6,5 % saccharose interverti $S_0 = 64,8$; $G_0 = F_0 = 32,4$ en grammes par litre

	Poids de sucre consommé en grammes par litre			Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du mlieu épuré à la norit (Dévia- tion initiale — 2°41)
	Sucre ΔS	Glucose ΔG	Fructose ΔF	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
7 h. 1/2.	5,7	4,1	1,64	8,8 %	6,3 %	2,5 %	— 2°54
24 heures.	15,3	10	5,3	23,7 %	15,5 %	8,2 %	— 2°47
48 —	27,6	16,8	10,8	52,5 %	26 %	16,5 %	— 2°16
72 —	36,1	21,1	15,0	55,5 %	32,5 %	23,0 %	— 1°68
6 jours..	47,3	26,7	20,6	73,0 %	41,2 %	31,8 %	— 1°33

2,5 % saccharose interverti $S_0 = 25,5$; $G_0 = F_0 = 12,75$

	ΔS	ΔG	ΔF	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Dévia- tion initiale — 0°86)
7 heures.	6,8	4,1	2,7	26,5 %	16 %	10,5 %	— 0°84
10 h. 1/2.	10,5	5,9	4,6	41 %	23 %	18 %	— 0°60
24 heures.	18,4	10	8,4	72 %	39 %	33 %	— 0°27
72 —	22,5	11,8	10,7	88 %	46 %	42 %	+ 0°07

Deuxième série

6,5 % saccharose interverti $S_0 = 62,10$ $G_0 = F_0 = 31,05$

	Sucre ΔS	Glucose ΔG	Fructose ΔF	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	(Dévia- tion initiale — 2°04)
9 heures.	5,9	4	1,9	9,5 %	6,5 %	3 %	— 2°15
28 —	15,6	9,4	6,2	25 %	15 %	10 %	— 1°88
48 —	21,9	13,0	8,9	35 %	20,7 %	14,3 %	— 1°65

Tableau 10

4,5 % saccharose interverti $S_0 = 45$; $G_0 = F_0 = 22,5$

	Poids de sucre consommé en grammes par litre			Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du milieu épuré à la norit (Dévia- tion initiale — 1°39)
	Sucre ΔS	Glucose ΔG	Fructose ΔF	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S_0}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
7 heures.	4,4	2,8	1,6	9,8 %	6,3 %	3,5 %	— 1°39
24 —	14,0	8,2	5,8	31 %	18,2 %	12,8 %	— 1°06
48 —	22,6	12,4	10,2	50,5 %	27,5 %	23,0 %	— 0°75

2,5 % saccharose interverti $S_0 = 24,8$; $G_0 = F_0 = 12,4$

	ΔS	ΔF	ΔF	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Dévia- tion initiale — 0°82)
6 h. 1/4.	4,5	2,6	1,9	18 %	10,5 %	7,5 %	— 0°76
10 heures.	6,35	3,3	3,05	25,5 %	13,3 %	12,2 %	— 0°62
25 —	12,15	6,35	5,9	49 %	25,5 %	23,5 %	— 0°33

1,5 % saccharose interverti $S_0 = 15,2$; $G_0 = F_0 = 7,6$

	ΔS	ΔG	ΔF	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Dévia- tion initiale — 0°53)
6 h. 1/2.	3,82	1,83	2,0	25,2 %	12 %	13,2 %	— 0,30
10 heures.	4,73	2,40	2,50	31,2 %	14,7 %	16,5 %	— 0,27
25 —	7,83	3,77	4,06	51,5 %	24,8 %	26,7 %	— 0,13
48 —	10,6	5,06	5,54	69,7 %	33,3 %	36,4 %	+ 0,035

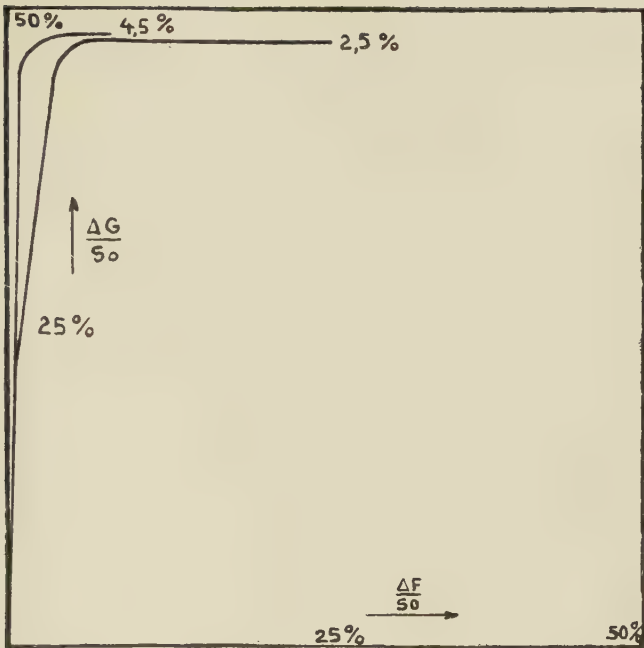


Diagramme 1. — Diagramme des taux, semblable au diagramme de la déformation. *Thbm. lactis*. Les chiffres indiquent la concentration du milieu en saccharose interverti.

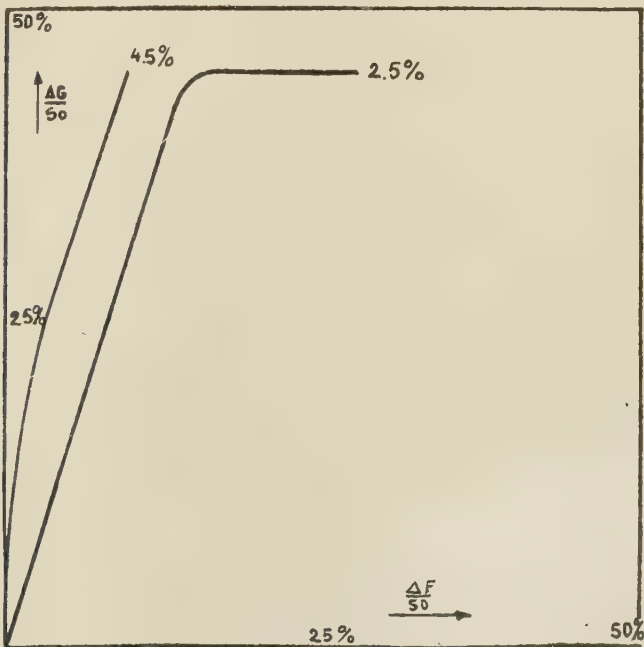


Diagramme 2. — Diagramme des taux, semblable au diagramme de la déformation. *B. coccus bovis*. Les chiffres indiquent la concentration du milieu en saccharose interverti.

Conclusions :

1° L'étude du diagramme des taux qui est semblable à celui des déformations dans le rapport $1/2$, montre que la déformation subie par le milieu varie avec la concentration initiale en sucre interverti. L'électivité du B. 30 est en faveur du glucose dans les milieux habituels ; mais si le milieu renferme 1,5 % de sucre interverti, ce bacille fait preuve d'une électivité pour le fructose.

2° Le pouvoir électif du B. 30 n'est pas rigoureusement le même dans toutes les expériences où le milieu renferme la même concentration initiale de sucre interverti. C'est pour éliminer cette incertitude que les expériences ont été exécutées par séries, sur des milieux renfermant les mêmes éléments nutritifs, contenant des concentrations différentes de saccharose interverti, et ensemencés en même temps.

3° On peut constater sur le diagramme des vitesses (3) que la quantité de sucre fermentée pendant une durée de 24 heures, comptées à partir de l'addition de la craie, est à peu près la même dans toutes ces expériences et qu'elle ne dépend pas de la concentration initiale des sucres (Dumas ¹⁰).

4° Durant les premières heures de chacune de ces fermentations, qu'il y ait beaucoup ou peu de sucre, la vitesse de fermentation du *mélange est constante*, puisque la courbe représentative est un segment rectiligne.

Ces deux derniers faits sont tellement connus qu'il est inutile d'insister (Brown ⁵, Dienert ⁸, Fromageot ²¹).

§ 2. — Fermentation lactique des milieux de culture dont la composition du mélange de sucre est quelconque.

Pour cette étude, nous avons cultivé le B. 30 qui a déjà servi dans les expériences précédentes, sur des milieux où le glucose et le fructose sont, dès le début de la fermentation, en proportions quelconques ; dans une première expérience, le glucose et le fructose sont dans la proportion de 3 à 1, et dans la seconde, de 1 à 3 ; la concentration initiale du mélange de sucre était de 4,5 % dans les deux cas.

Les résultats ont été réunis dans le tableau 11 et le diagramme 5.

Le diagramme (5) est semblable au diagramme des *concentrations* (cette remarque est absolument capitale), puisque la quantité de sucre initiale, 4,5 % est la même dans tous les cas ; on a figuré sur ce diagramme (5), outre les résultats de ces deux expériences, ceux de la fermentation d'un milieu contenant 4,5 % de

Tableau 11

4,5 % d'un mélange de sucre à 3 de glucose pour 1 de fructose

$$S_0 = 44,5 \quad G_0 = 33,2 \quad F_0 = 11,2$$

	Poids de sucre consommé en grammes par litre			Poids de sucre consommé % du mélange initial			Déviation du milieu épuré à la norit (Dévia- tion initiale + 1°57)
	Sucre	Glucose	Fructose	Sucre $\frac{\Delta S}{S_0}$	Glucose $\frac{\Delta G}{S}$	Fructose $\frac{\Delta F}{S_0}$	
	ΔS	ΔG	ΔF				
6 h. 1/2.	4,8	3,1	1,7	8,8 %	6,95 %	2,8 %	+ 1°60
30 heures.	14,5	9,1	5,4	32,5 %	20,5 %	12 %	+ 1°76
54 —	21,1	13,5	7,6	47,5 %	30,5 %	17 %	+ 1°72
78 —	26,1	17,25	8,85	59,0 %	39 %	20 %	+ 1°65
7 jours.	34,7	24,1	10,6	78,3 %	54,5 %	23,8 %	+ 1°25
30 — .	44,4	33,2	11,2	100 %	75 %	25 %	(théori- quement)

4,5 % d'un mélange de sucre à 1 de glucose pour 3 de fructose

$$S_0 = 44,2 \quad G_0 = 11,1 \quad F_0 = 33,1$$

	ΔS	ΔG	ΔF	$\frac{\Delta S}{S_0}$	$\frac{\Delta G}{S_0}$	$\frac{\Delta F}{S_0}$	(Dévia- tion initiale — 4°66)
8 heures.	5,18	2,83	2,35	11,7 %	6,4 %	5,3 %	— 4°45
24 —	13,1	6,2	6,9	29,5 %	14 %	15,5 %	— 3°90
48 —	19,7	8,25	11,4	44,5 %	18,5 %	26 %	— 3°18
72 —	24,5	9,4	15,1	55 %	21 %	34 %	— 2°59
7 jours.	33,7	10,8	22,8	76,5 %	24,5 %	52 %	— 1°25
30 — .	44,2	11,1	33,1	100 %	25 %	78 %	(théori- quement)

sucres interverti, expérience qui a été décrite au paragraphe précédent.

Il apparaît clairement sur le diagramme (5) semblable à un diagramme des concentrations, que la composition des sucres fermentés dans le même temps est à peu près la même dans les trois expériences figurées sur ce diagramme ; cette composition varie donc relativement peu avec la composition du mélange initial, sauf, bien entendu, quand la concentration de l'un des sucres est tombée au-dessous d'une certaine valeur, et que ce sucre n'est plus fermenté en quantité notable. Ce fait peut encore s'exprimer ainsi : le rapport des vitesses de fermentation ne dépend pas de la composition du mélange des sucres restants, dans de très larges limites.

Voyons maintenant les résultats que l'on obtiendrait en utilisant un diagramme de la déformation pour représenter ces expériences. Dans le cas du ferment étudié, le rapport des vitesses de fermentation, v , est légèrement supérieur à 1 : pour simplifier le raisonnement qui suit, nous adopterons la valeur 1. Au moyen de la formule (11) du chapitre II (§ 4), on peut calculer la pente, p , de la tangente aux courbes qui représentent la marche de ces fermentations sur le diagramme des déformations ; on a :

$$(11) \quad p = \frac{F_o}{G_o} v$$

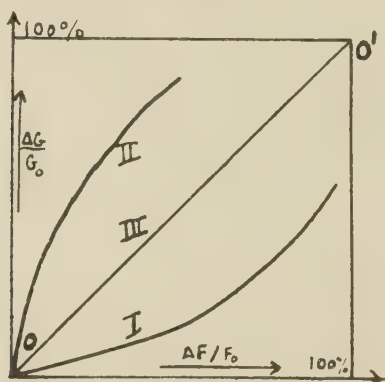


Fig. 12. — Diagramme de la déformation.

- | | | |
|------|--------------------|-------------------------|
| I. | Le milieu renferme | 3 glucose et 1 fructose |
| II. | — — — | 1 glucose et 3 fructose |
| III. | — — — | 1 glucose et 1 fructose |

Puisque v est voisin de 1 pour les trois fermentations considérées, p est voisin de :

$$(21) \quad \left\{ \begin{array}{ll} \text{Première expérience.....} & \frac{F_o}{G_o} = \frac{1}{3}, \quad p = \frac{1}{3} \\ \text{Deuxième expérience.....} & \frac{F_o}{G_o} = 3, \quad p = 3 \\ \text{Troisième expérience....} & \frac{F_o}{G_o} = 1, \quad p = 1 \end{array} \right.$$

ce qui correspond à des courbes représentatives dont l'allure est indiquée sur la figure (12) :

Loin de nous conduire à une conception simple de la fermentation élective, la théorie de la déformation nous amènerait à dire que l'électivité est en faveur du glucose dans les milieux où le fructose est en excès sur le glucose, et inversement. La simplicité de la conception à laquelle conduit la considération des vitesses de fermentation suffit pour que l'on puisse affirmer que la

notion de déformation n'exprime pas une propriété intrinsèque de la fermentation élective, mais seulement un de ses effets.

§ 3. — Influence de la nature des sucres sur la fermentation lactique.

Cette étude comporte une série de trois expériences exécutées simultanément d'après la même méthode qui a été décrite au paragraphe (2) de ce chapitre ; le premier milieu contenait 4,5 % de glucose, le second, 4,5 % de fructose, le troisième, 4,5 % de sucre interverti. La concentration du NaCl était la même dans les trois milieux, ainsi qu'il a été dit plus haut.

Le tableau (12) résume les résultats obtenus.

Tableau 12
4,5 % Glucose

	Poids de sucre consommé en grammes par litre	Poids de sucre consommé % du sucre initial	Nombre de cellules par millim. cube
	ΔS	$\Delta S/S_0$	
6 heures.	2,92	6,55 %	»
28 —	13,1	29,2 %	105.000
96 —	26,8	61,0 %	95.300

4,5 % fructose

	ΔS	$\Delta S/S_0$	
28 heures.	7,3	16,2 %	84.000
48 —	12,3	27,4 %	»
96 —	20,5	45,5 %	70.500

4,5 % sucre interverti

	ΔS	$\Delta S/S_0$	
8 heures	6,4	14,2 %	»
24 —	14,6	32,5 %	185.000
48 —	25,0	56 %	161.000
5 jours	36,1	81 %	149.000
12 —	40,5	91 %	»

On peut constater sur le tableau (12) que le développement bactérien est très rapide ; le nombre des cellules atteint son maximum moins de 24 premières heures après l'ensemencement, alors que la quantité de sucre qui a fermenté pendant le même temps est insignifiante. Puis, ce nombre décroît légèrement, ce qui est un phénomène bien connu, l'autolyse. D'autre part, le nombre de cellules formées dépend exclusivement de la nature des sucres du milieu, puisque tous les autres éléments et toutes les autres conditions de culture sont les mêmes dans les trois expériences ; on constate que le sucre interverti est plus favorable que chacun de ces sucres isolément ; ce dernier fait, qui est très important, sera interprété ainsi : les sucres fermentescibles sont des aliments pour le microbe, et non de simples substrats, comme il arrive dans la fermentation zymasique ; mais leur valeur alimentaire dépend de leur nature chimique ; il en est de l'alimentation hydrocarbonée, comme de l'alimentation azotée : il faut que l'azote soit engagé dans des combinaisons chimiques assimilables, et que le milieu renferme plusieurs de ces substances ; de même une bonne *nutrition hydrocarbonée doit comprendre plusieurs sucres fermentescibles*.

Mais il y a plus : on peut calculer, par interpolation, les quantités de sucres disparus 24 heures après l'addition de la craie ; calculons le rapport entre ces quantités de sucre et le nombre des cellules qui les ont fait fermenter ; ce rapport mesurera ce qu'on peut appeler la « fermentescibilité » d'un sucre ; ces trois rapports sont entre eux comme :

$$\begin{aligned} 6.5 / 85.000 &= 7,5. 10^{-5} \text{ pour le fructose} \\ 14.6 / 185.000 &= 7,8. 10^{-5} \text{ pour le saccharose interverti} \\ 11.1 / 110.000 &= 10,5. 10^{-5} \text{ pour le glucose} \end{aligned}$$

Comme la fermentescibilité du fructose est du même ordre que celle du sucre interverti, la fermentescibilité du mélange des deux sucres n'a aucun rapport avec celle de chacun d'eux fermentant isolément. D'autre part, il est évident que ce sont les fermentescibilités des deux sucres qu'il faut comparer avec l'électivité dont l'agent de la fermentation fait preuve quand on le cultive sur un mélange de ces sucres. Cette remarque essentielle montre que les expériences de M. Fritz Lieben et de Mlle Luise Löwe³⁵ doivent être interprétées avec précaution (v. chap. I).

(1) Je crois utile de faire remarquer que les expériences considérées par Duclaux avaient été faites, en général, comme celles de Dumas, en ajoutant une quantité déterminée de levure à une solution de sucre, procédé irréprochable.

§ 4. — Particularités de la fermentation lactique élective.

Comparons la fermentation lactique élective avec la fermentation alcoolique élective, et reportons-nous aux paroles de Duclaux (1) (*Traité de Microbiologie*), d'après lesquelles les sucres sont consommés à la même vitesse, à peu de chose près, que ce soit du glucose ou du fructose ou le mélange des deux, et que seule la proportion des sucres qui disparaissent, varie au cours de la fermentation ; il apparaît nettement d'après les expériences qui précèdent que la fermentation lactique est beaucoup moins souple ; en particulier si on compare les deux expériences citées au tableau 11, on voit que la vitesse de fermentation qui était, au début, très voisine dans les deux expériences, baisse très rapidement dans le cas du milieu qui renfermait 3 de fructose pour 1 de glucose, dès que la concentration de ce dernier sucre est devenue un peu faible, alors que cette vitesse se maintient à la même allure qu'au début, dans le cas où le milieu renfermait 3 de glucose pour 1 de fructose.

Pour la fermentation alcoolique, les faits ne sont pas tout à fait aussi rigoureux que le disait Duclaux, si on s'en rapporte aux résultats de Hopkins ²⁶ (1928) ; mais ils n'en sont pas moins profondément différents de ceux observés dans la fermentation lactique. Il faut remarquer cependant qu'il y a une fermentation alcoolique à laquelle s'apparente la fermentation lactique : c'est celle des levures de Sauternes ; d'ailleurs, nous avons déjà remarqué que ces deux fermentations ont un pouvoir électif variable avec la concentration initiale du sucre.

§ 5. — Conclusion.

L'étude des fermentations électives des milieux, qui renferment des concentrations très différentes de glucose et de fructose, permet de conclure que la composition des sucres, qui ont disparu simultanément, dépend très peu de la composition du mélange des sucres présents dans le milieu, dans de très larges limites. Aussi, les variations et même le renversement de l'électivité du B. 30 avec la concentration initiale du milieu en saccharose interverti, apparaissent comme des propriétés secondaires qui se superposent à la loi générale, et qui semblent avoir un caractère nettement spécifique. Donc, nous pouvons concevoir l'électivité comme un phénomène complexe dans les détails, mais régi, dans ses grandes lignes, par une loi fondamentale *qui s'exprime dans les mêmes termes* que la loi fondamentale de la nutrition, dite loi des relations physiologiques (Mazé ³⁶), et, suivant

laquelle un être tend à assimiler les éléments du milieu où il vit dans des proportions assez étroites.

D'autre part, le développement bactérien est plus abondant dans un milieu contenant un mélange de sucres fermentescibles que dans les milieux contenant un seul de ces sucres (§ 3), ce qui prouve que le ferment étudié se comporte à l'égard des sucres comme avec les éléments plastiques ; ce fait est un peu inattendu quand on le rapproche des deux suivants : d'une part, tous les produits de dégradation connus des sucres sont les mêmes pour tous les sucres, l'acide pyruvique en particulier qui peut servir de matière première à la synthèse des amino-acides ; d'autre part, les sucres sont surtout des aliments *énergétiques* comme je l'ai exposé au chapitre I. Aussi on comprend mal pourquoi le mélange d'un sucre très fermentescible avec un sucre qui l'est moins, puisse exercer une action plus favorable sur le développement des bacilles que celle du sucre le plus *facilement* « attaquable ».

Il y a pourtant une différence profonde entre la nutrition qui concerne la vie végétative du ferment, et le pouvoir électif qui se manifeste durant la fermentation d'un mélange de deux sucres par ce ferment ; si la concentration d'un des sucres est devenue trop petite, l'autre sucre fermente à peu près seul, puisque chacun d'eux est fermentescible ; dans la nutrition, au contraire, la carence d'un seul élément nutritif rend le milieu abiotique.

En résumé : la fermentation élective est la conséquence d'une propriété physiologique bien définie du ferment qui la provoque, puisqu'elle ne dépend que faiblement des concentrations des sucres du milieu de culture, dans de très larges limites, et que le pouvoir électif est le même dans un bouillon renfermant 4,5 % de sucre interverti, bouillon dans lequel les bacilles se sont multipliés, et dans une solution de 4,5 % de sucre interverti où on a ajouté des bacilles lavés.

CHAPITRE VI

COMPARAISON ENTRE L'ÉLECTIVITÉ DES FERMENTS LACTIQUES ET LA CONFIGURATION STÉRÉOISOMÉRIQUE DE L'ACIDE LACTIQUE FORMÉ

§ 1. — Introduction.

Pasteur ³⁷ a montré qu'il est essentiel en biologie de distinguer les deux formes optiquement actives que présentent certaines espèces chimiques ; il a attribué cette activité à l'asymétrie de leur molécule, et non à la forme asymétrique du réseau cristallin lequel est composé de molécules symétriques ; en effet, certaines substances, comme le chlorate de potassium, ont des cristaux optiquement actifs, alors que leur solution est inactive.

Or, la synthèse chimique d'un corps, dont les molécules sont dissymétriques, donne toujours un produit inactif ; donc ce produit de synthèse est un mélange des deux formes actives dont les déviations se compensent exactement ; et comme ses propriétés chimiques permettent de lui attribuer, sans ambiguïté, une formule chimique développée, on est conduit à supposer que la représentation conforme de la structure des deux formes actives est donnée par deux schémas à trois dimensions qui sont entre eux comme un objet et son image dans un miroir plan ; s'il en est ainsi, les pouvoirs rotatoires de ces deux formes sont égaux et de signe contraire, puisqu'on attribue les propriétés physiques d'une molécule à la nature et à l'arrangement de ses atomes. On vérifie effectivement que les deux formes actives de tous les corps asymétriques ont le même pouvoir rotatoire en valeur absolue et les mêmes propriétés physiques, et que le produit inactif par compensation, appelé racémique, est un mélange par parties égales de ces deux formes ; le racémique peut avoir des propriétés physiques légèrement différentes de celles des formes actives.

Ces énantiomorphes sont relativement instables ; en effet, la synthèse chimique de ces corps produit toujours le racémique ; en outre, chacun des énantiomorphes se transforme plus ou moins facilement, pour donner le racémique, sous l'action de la chaleur,

des alcalis, ou de toute autre cause. Il me semble que cette instabilité des corps actifs peut être rapprochée du phénomène des macles : on appelle ainsi le groupement que constituent deux formes cristallines d'une même substance, qui se pénètrent l'une l'autre pour donner un cristal possédant des angles rentrants ; les cristallographes expliquent cette tendance des deux formes à syncristalliser, en remarquant qu'elle est un progrès vers la réalisation d'une *symétrie d'ordre plus élevé que celle qui appartient au système réticulaire de ces cristaux*. La racémisation des corps actifs est, elle aussi, une tendance vers une symétrie d'ordre plus élevé.

L'idée fondamentale de Pasteur a été d'attribuer la dissymétrie, dont les êtres vivants font preuve à l'égard des énantiomorphes, à une propriété fondamentale de la vie, à une *asymétrie* des matières primordiales de la vie. Et il est certain que la matière vivante est le seul réactif qui puisse distinguer les deux antipodes optiques d'un corps. Cette question a été pour ainsi dire renouvelée par Le Bel, quand il a inventé ce qui est devenu notre stéréochimie ; en effet, au lieu de considérer la symétrie de la molécule entière, la théorie du carbone tétraédrique nous a conduit à envisager les *centres d'asymétrie* de la molécule ; c'est ainsi que l'isomérisation des aldoses, qui sont *chimiquement* différents, ne peut s'expliquer que par leurs différentes configurations stériques ; et, ici encore, les processus biochimiques se sont montrés des réactifs particulièrement délicats pour distinguer des corps de structures très voisines, que le chimiste a beaucoup de mal à séparer l'un de l'autre, comme les sucres α et β . Toutefois, la plupart des stéréoisomères, les aldoses en particulier, peuvent, grossièrement, être considérés comme une chaîne de « carbones asymétriques », c'est-à-dire une chaîne de *centres d'asymétrie*. Il n'y a donc pas de différence de nature entre l'isomérisation des deux antipodes optiques de l'acide lactique et celle de deux aldoses épimères l'un de l'autre comme le glucose et le mannose ; il est donc logique de confondre les processus biochimiques qui font preuve d'une réaction spécifique à l'égard de tous ces stéréoisomères, et de leur appliquer les expressions de « propriétés asymétriques » et « d'attaque élective » ; aussi la fermentation élective se trouve être un cas particulier de ce phénomène plus général (M. Schoen ⁴⁰, *Ann. de la Brasserie*, 1934, p. 1).

Cependant, on ne peut s'empêcher de voir une différence de nature entre un processus asymétrique proprement dit, et l'oxydation des sucres par les ferments acétiques ; en effet, ce dernier phénomène est très analogue à ce que les chimistes appellent un empêchement stérique, comme par exemple le fait qu'on ne peut

pas préparer l'anhydride de l'acide fumarique, tandis qu'on peut préparer celui de l'acide maléique (1). En outre, les ferments acétiques peuvent oxyder la sorbite pour donner le l-sorbose (2), ce qui achève de consacrer l'importance capitale de cette découverte, puisque les glucides de la série d sont les seuls que l'on rencontre dans la nature, et la place légèrement à part que cette oxydation biochimique doit occuper dans une classification des phénomènes stéréochimiques. — (Bertrand) ^{1 et 3}.

A mon avis, l'analogie faite entre la fermentation élective et les processus biochimiques asymétriques, a pour conséquence immédiate de mettre en lumière le caractère même de l'électivité : il y a « attaque élective » quand la *même* diastase provoque la réaction de deux *stéréoisomères* voisins ; c'est donc la « *communauté de diastase* » ou de fonction physiologique (s'il s'agit d'une cellule vivante) qui est le véritable caractère de l'électivité ; remarquons que, d'après M. Schoen ¹⁶, le glucose et le fructose fermentent sous l'action d'une même diastase (*Ann. Brass.*, 1928-29, p. 99) ; mais cette définition est tellement précise, que, si on l'appliquait à la lettre, la fermentation élective serait tout juste admise au rang des phénomènes électifs ! Il me semble d'ailleurs certain que la fermentation élective a trop de modalités différentes suivant les races de ferments pour être un phénomène relevant uniquement de la stéréochimie. Et je crois avoir montré qu'elle participe à la fois de la nutrition et des processus asymétriques.

Il est intéressant de rechercher les corrélations qui peuvent exister entre les différentes propriétés d'ordre stéréochimique ou asymétrique d'une cellule vivante ; nous ne ferons, en cela, que de chercher une généralisation et en même temps une vérification de la pensée de Pasteur qui attribuait une structure asymétrique à la cellule elle-même (3). Parmi ces corrélations, on peut citer d'abord les recherches faites sur les sucres et leurs dérivés : si l'on offre les racémiques de ces différents corps à une moisissure, on observe toujours une électivité en faveur de l'antipode qui appartient à la série d ; et ensuite les recherches de M. Hopkins ²⁷ (1931) sur les propriétés électives des levures cultivées sur du sucre interverti, ou du glucose ordinaire (formes α et β) ou du fructose ordinaire (formes mal connues ayant des pouvoirs rotatoires dif-

(1) Cette comparaison entre la spécificité des ferments acétiques et un empêchement stérique, analogue à celui qui résulte de l'isomérisie cis-trans, est beaucoup plus évidente sur un schéma des sucres conçu comme un noyau fermé.

(2) Ce l. sorbose est fermentescible, tout au moins par entraînement.

(3) Pasteur, *C. R. Ac. Sc.* 103 (86), p. 138. M. Schoen, *Ann. Brass.* (1934), p. 7 et 33.

férents) : dans chaque cas, on observe que les levures ordinaires fermentent le plus lentement celui des sucres que les levures de Sauternes fermentent le plus vite.

Nous avons jusqu'ici envisagé un seul côté du problème, celui de l'attaque élective ; mais Pasteur avait déjà observé que les êtres vivants font généralement des synthèses asymétriques. C'est le cas de la fermentation lactique. Il est intéressant de comparer deux propriétés d'ordre stéréochimique qui intéressent deux fonctions nettement distinctes d'un micro-organisme, comme le sont la fermentation élective et la synthèse asymétrique de l'acide lactique ; nous atteindrons ainsi la structure *asymétrique* des cellules.

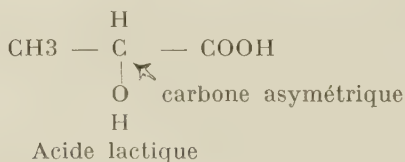
Pour que cette comparaison soit justifiée, il est nécessaire d'établir les trois points suivants :

1^o Avoir des ferments possédant une électivité en faveur du glucose, et si possible une électivité en faveur du fructose — ce qui a été l'objet des chapitres IV et V.

2^o Etablir que la synthèse de l'acide lactique est bien un processus asymétrique et ne résulte pas de la synthèse du racémique, suivie d'une attaque élective.

3^o Que ces deux phénomènes sont parfaitement indépendants, en ce sens que la configuration du sucre qui fermente ne puisse se transmettre à l'acide formé (Duclaux, *Traité de Microbiologie*, t. 1, p. 220 et suiv.).

§ 2. — L'activité optique de l'acide lactique de fermentation.



L'acide obtenu par fermentation est, en général, un mélange des deux isomères optiques en quantités différentes, où tantôt la forme droite, tantôt la forme gauche, prédominent et imposent le sens de leur déviation au mélange. Il faut cependant montrer que cette déviation optique est le résultat de la synthèse asymétrique de ce corps, et non pas celui d'une destruction asymétrique de l'acide lactique, qui aurait été primitivement racémique. Pour cela, il suffit de montrer qu'il existe des bacilles lactiques qui ne s'attaquent pas à l'acide qu'ils produisent et que cet acide possède un pouvoir rotatoire très voisin de celui de l'une des formes actives pures ; cette seconde partie de la démonstration est évidemment facile à fournir ; la première reposera sur le fait que

le taux d'acide formé pour 100 de sucre disparu est voisin de 100 %. Pour établir ce fait indiscutablement, on ne peut se fier aux dosages chimiques de l'acide lactique dont les résultats dépendent des impuretés du milieu en fermentation ; il faut extraire l'acide, le transformer en lactate de zinc et peser ce dernier.

Voici les rendements de la fermentation du Thbm. lactis et du B. 30, obtenus par cette méthode analytique, c'est-à-dire les rapports du poids d'acide lactique extrait au poids de sucre consommé ; ces chiffres sont évidemment des limites inférieures :

**Rendement de la fermentation
d'après l'acide lactique extrait**

	Rendement	α_D		
Thbm lactis.....	{ 89 %	+	8°25	en solution à 2 %
	{ 80 %	+	10°	— 1,34 %
B. 30	{ 85 %	+	7°86	— 2,3 %
	{ 80 %	+	8°33	— 2 %

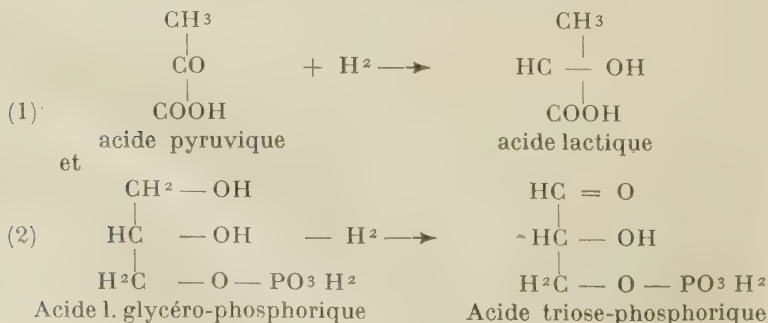
Rappelons que d'après Jungfleisch et Godchot ²⁹, le pouvoir rotatoire du d-lactate de zinc à 15°, vaut, suivant la concentration : —6° à 5 % ; —8° à 2,5 % ; —11°1 à 1,25 % ; —13°35 à 0,512 %.

Le sens de déviation de l'acide lactique de fermentation a fait l'objet de nombreuses recherches : est-ce ou non une propriété spécifique du ferment étudié ? Il est incontestable que l'on peut faire varier le pouvoir rotatoire de l'acide produit par un ferment ; par exemple, le B. bulgare donne de l'acide droit dans le lait additionné de craie, et de l'acide racémique dans le bouillon de touraillon glucosé, et additionné de craie (MM. Bertrand ² et Duchacek ⁹) ; d'autre part, si on cultive ensemble, dans le même milieu, un bacille acétonobutylique et un bacille lactique qui produit de l'acide gauche en culture pure, on obtient un acide racémique ; il en est de même des bacilles qui produisent l'acide droit (Pederson, Peterson et Fred ³⁸, 1926) ; (Tatum, Peterson et Fred ⁴⁴, 1932). Beaucoup d'auteurs affirment que, si l'on emploie un sucre au lieu d'un autre pour préparer le milieu de culture, on peut changer le sens de la déviation ; d'autres auteurs n'ont pas observé ce changement en particulier. Pederson, Peterson et Fred ³⁸ (1926). Dans un autre ordre d'idée, les cellules de levures et l'extrait de levure séchée peuvent dismuter le méthylglyoxal en acide lactique ; or les cellules produisent de l'acide d(—)lactique aux dépens du méthylglyoxal, et l'extrait de levure séchée de l'acide racémique (M. Neuberg ³³ et Mlle Kobel ³⁴ ; 1913 et 1927) ; c'est pourquoi il était intéressant de faire fermenter du sucre interverti par des cellules de bacilles lavées pour voir si, dans ce cas, le sens de la déviation va-

rierait ; or, le pouvoir rotatoire de l'acide formé est voisin de celui de l'acide gauche quelle que soit la manière dont la fermentation a été conduite (chap. IV). Ce pouvoir rotatoire ne varie pas davantage quand on fait varier la concentration initiale du sucre interverti, ou bien la proportion de glucose et fructose dans le milieu de culture dans les expériences qui ont été décrites au chapitre précédent (chap. V). De même, le pouvoir rotatoire du *Thb. lactis* et du β *coccus bovis* est resté le même quand on a fait varier la concentration initiale en sucre interverti du milieu de culture (chap. IV). Nous sommes donc fondés à considérer le sens du pouvoir rotatoire de l'acide lactique de fermentation, sinon comme un caractère absolument stable, du moins comme un caractère suffisamment stable pour être véritablement spécifique.

§ 3. — La configuration du sucre qui fermente ne peut se transmettre à l'acide lactique.

On sait que les produits intermédiaires de la fermentation sont identiques entre eux pour tous les sucres fermentescibles, hypothèse qui prend les deux formes suivantes : ou bien on admet que les hexosesphosphates se transforment en méthylglyoxal, corps dont la molécule ne présente aucune espèce d'asymétrie, et que ce méthylglyoxal se dismute en acide lactique ; ou bien avec Schoen, on pense que l'acide lactique résulte de la réduction de l'acide pyruvique. Cette manière de voir a été exposée d'une manière détaillée par Embden, qui considère que la réduction directe de l'acide pyruvique par l'acide l-glycérophosphorique, ne donne pas deux molécules d'acide lactique (et une d'acide phosphorique), mais une molécule d'acide lactique et une molécule de triosephosphate. Nous adopterons le schéma de Embden ¹³ en faisant intervenir ce qu'on appelle dans l'étude des fermentations l'hydrogène actif, ce qui a pour effet de diviser la réaction en deux réactions partielles ; cette distinction réelle ou fictive, permet d'exposer le mécanisme de ces opérations avec plus de clarté.



Ce schéma permet de comprendre que la production de l'acide lactique droit ou gauche, dépend exclusivement de la diastase qui catalyse l'action de l'hydrogène sur l'acide pyruvique, ces deux derniers corps étant tous deux des corps optiquement inactifs ; de sorte que cette dernière étape de la fermentation ne dépend en rien des étapes précédentes.

§ 4. — Corrélation entre deux propriétés d'ordre stéréochimique des bacilles lactiques.

Dans ce travail, nous avons comparé cette propriété d'ordre stérique des bacilles lactiques avec leurs propriétés électives à l'égard de deux sucres d'espèces chimiques différentes, le glucose, dont le pouvoir rotatoire est droit et le fructose dont le pouvoir rotatoire est gauche.

Tous ces bacilles, dont nous avons étudié les propriétés électives au chapitre IV, présentent une électivité en faveur du glucose, sauf dans certaines conditions le B. 30, qui fait preuve d'une électivité très faible pour le fructose. Le *Streptococcus V*, et en général le B. 30 font preuve d'une faible électivité pour le glucose, le *Thb. lactis* et le β *coccus bovis* d'une électivité extrêmement prononcée. Le tableau suivant résume les résultats de la comparaison des pouvoirs électifs de ces ferments avec la forme stéréoisomérique de l'acide produit.

Tableau 13

	Acide gauche	Acide droit
Electivité pour le glucose :		
Très profonde.....	<i>Thb. lactis</i>	β <i>coccus bovis</i>
Moyenne	B. 30	<i>Strepto-coccus V</i>
Electivité pour le fructose :		
Très faible.....	B. 30	

On peut constater qu'il n'y a aucune corrélation entre les propriétés d'ordre asymétrique des diastases dont l'une provoque la première attaque des sucres, et l'autre catalyse la dernière étape de la fermentation lactique, la réduction de l'acide pyruvique.

CHAPITRE VII

RECHERCHES SUR LE RENDEMENT DE LA FERMENTATION LACTIQUE. LA CLASSIFI- CATION D'ORLA JENSEN

Au chapitre IV, nous avons donné les résultats de six expériences, dont trois portaient sur le *Thb. lactis* et trois sur le β coccus, résultats qui concernaient seulement l'électivité : le rendement en acide lactique de ces fermentations dans ces six expériences fait l'objet du présent chapitre, parce que la considération de ces chiffres nous a conduit à vérifier et à compléter les observations de Grey ²⁴ et de Orla Jensen ²⁵.

Orla Jensen considère que le rendement d'une fermentation lactique est un caractère spécifique des races de ferments lactiques. Il distingue trois catégories de bactéries : celles de la première catégorie produisent presque exclusivement de l'acide lactique, comme le *Thb. lactis* ; les secondes, comme le β coccus bovis, produisent en outre de petites quantités de corps accessoires ; les autres, enfin, ne sont plus de vrais ferments lactiques ; elles font la transition avec le groupe des *Bacteria coli* et *aerogenes*.

On peut vérifier ces faits sur les tableaux qui résument les expériences que nous avons faites sur ces deux bacilles, qui ont été cultivés dans trois milieux différents : le premier renfermait 4,5 % de sucre interverti et de la craie, le second, 2,5 % de ce sucre et de la craie, le troisième, 3 % de ce sucre et ne contenait pas de craie, de sorte que le pH du milieu a diminué rapidement et que la production d'acide n'a pas tardé d'être bloquée.

Les rendements de ces fermentations ont été évalués de deux manières : dans le premier cas, on a fait le rapport de la quantité d'acide lactique dosé par la méthode Fürth et Charnass à la quantité de sucre disparu et dans le second, le rapport de la quantité de tous les acides, qui ont pu se former, à cette même quantité de sucre disparu. On verra que ces deux méthodes ont donné des chiffres très voisins ; on en conclut immédiatement que l'acide formé par ces deux ferments est presque exclusivement de l'acide lactique.

L'équation globale théorique de la fermentation lactique est :



On voit donc que le rendement théorique est égal à 100 % ; celui des vrais ferments lactiques comme le *Thb. lactis* atteint 95 % au moins.

Les rendements des quatre fermentations qui ont eu lieu en présence de craie sont réunis dans le tableau (14).

Ceux des deux dernières expériences, où le milieu ne contenait pas de craie, sont indiqués dans le tableau (15). Dans ces deux expériences, l'acide lactique a été dosé uniquement par acidimétrie.

Tableau 14

β coccus bovis

Rendement de la fermentation % de la fraction consommée du sucre

	Milieu contenant 4,5 % de sucre et de la craie			Milieu contenant 2,5 % de sucre et de la craie	
	d'après l'acide lactique	d'après le calcium		d'après l'acide lactique	d'après le calcium
2 jours ...	»	100 %	4 jours ...	»	96 %
14 — ...	»	100 %	11 — ...	86,2 %	86 %
34 — ...	76,6 %	79,5 %	16 — ...	83 %	79,7 %
			30 — ...	75,5 %	79,8 %

Thermo-bacterium lactis

Rendement de la fermentation % de la fraction consommée du sucre

	Milieu contenant 4,5 % de sucre et de la craie			Milieu contenant 2,5 % de sucre et de la craie	
	d'après l'acide lactique	d'après le calcium		d'après l'acide lactique	d'après le calcium
2 jours ...	»	100 %	2 jours ...	»	100 %
4 — ...	»	96 %	5 — ...	»	»
8 — ...	»	93 %	8 — ...	102 %	103 %
29 — ...	»	100 %	20 — ...	96 %	101 %
46 — ...	98 %	100 %			

Tableau 15
Thermobacterium lactis
Milieu renfermant 3 % de sucre

	Sucre consommé en milligrammes pour 100 C ₃	Acide lactique en milligrammes pour 100 C ₃	Pertes	Ren- dement % du sucre disparu	p H
0 heure	»	»	»	0 %	7,4
24 —	193	181	12	93 %	4,1
40 —	486	472	14	97 %	3,4
6 jours	686	686	0	100 %	3,2

β coccus bovis
Milieu renfermant 3 % de sucre

	»	»	»	0 %	7,4
0 heure	»	»	»	0 %	7,4
17 —	107	87	20	81 %	5,65
30 —	180	172	8	95 %	4,2
6 jours	233	160	73	68,6 %	4,4
16 —	500	184	316	36,8 %	4,4

La première conclusion à tirer de ces expériences, nous l'avons déjà dit, est que l'acide lactique constitue la presque totalité des acides produits par les deux ferments étudiés. Et comme le rendement théorique est égal à 100 %, la différence entre le poids d'acide lactique formé et celui du sucre disparu doit être attribuée à une fermentation secondaire, qui donne naissance à des corps non acides, d'après ce qui précède. Le *Thb. lactis* forme peu ou pas de ces produits accessoires, tandis que le *β coccus bovis* en forme des quantités notables, comme le veut la classification de Orla Jensen. Parmi ces produits accessoires, on trouve de l'acétyl-méthyl-carbinol, qui a été caractérisé, sur le distillat du milieu de culture, par les trois réactions suivantes : l'hypoiodite donne de l'iodoforme avec le distillat du milieu de culture ; la liqueur cupropotassique est réduite par ce distillat ; enfin on peut obtenir un précipité avec la paranitrophénylhydrazine ; ces cristaux, lavés 5 fois dans l'eau, dissous dans l'alcool, recristallisés, donnent une coloration noire sous l'action de la soude.

Toutefois la réaction du milieu change considérablement les proportions entre le produit principal, l'acide lactique, et les produits non acides, dits accessoires. En effet, en milieu faiblement tamponné, le rendement de la fermentation provoquée par le *β coccus bovis*, qui est au début de 90 %, est tombé en fin de fer-

mentation à 37 %, tandis que le pH et l'acidité du milieu restaient constants. On ne saurait prétendre dans ces conditions que l'acide lactique soit le « produit principal » de cette fermentation ! Je pense plutôt qu'il faut dire que le β coccus possède deux activités fermentaires, la fermentation lactique proprement dite qui est la fermentation principale, et une fermentation secondaire.

Cette notion de fermentation principale et de fermentation secondaire est appuyée sur le fait que l'on doit diviser la fermentation en deux phases : dans la première le rendement atteint 95 % au moins, dans la seconde, les produits non acides se forment en quantité plus ou moins importante, si le milieu renferme de la craie ; si le milieu ne renferme pas de craie, ils sont seuls à prendre naissance, quand le pH du milieu atteint 4,2. Cette division de la fermentation en deux phases a été observée par Grey²⁴ dans la fermentation d'une solution de glucose et de différents sels par des émulsions de *B. coli* ; Virtanen⁴⁶ a confirmé cette distinction de la fermentation du *B. coli* en deux phases, en ensemençant ce bacille dans des milieux qui contenaient tous les éléments nutritifs habituels ; il a précisé que la fermentation lactique est prépondérante dans la première phase, l'alcool et les acides succinique et formique dans la seconde.

Nos expériences confirment cette division *dans le cas d'une fermentation lactique véritable* dont les produits accessoires ne sont pas acides. D'après Kluyver et Donker³⁰, cette activité secondaire des ferments lactiques ne serait pas nécessairement une véritable fermentation du sucre ; par exemple, la formation d'acétyl-méthylcarbinol et du 2-3 butylène-glycol exigerait la présence d'un accepteur d'hydrogène, ne fût-ce que du lévulose ; Scheffer aboutit à une conclusion analogue pour les races de *B. coli* qui produisent l'acétyl-méthylcarbinol ; dans le même ordre d'idée, Braak⁶ montre que la glycérine ne peut être fermentée que par les races de *B. coli* qui peuvent déshydrogéner ce corps en fixant l'hydrogène sur une partie de la glycérine pour donner le triméthylène-glycol, ou bien sur un accepteur d'hydrogène comme les peptones du milieu de culture.

En résumé, la fermentation de tous les bacilles producteurs d'acide lactique peut être divisée en deux phases dont la première est toujours une fermentation lactique presque pure, alors que la seconde est une activité fermentaire qui dépend de l'espèce du bacille considéré. Dans le cas du β coccus bovis, on peut dire que cette activité secondaire présente les caractères d'une réaction de défense de l'organisme, quand celui-ci est fatigué par l'âge et l'accumulation de lactate de calcium, si la fermentation a lieu en présence de craie, ou bien, si le milieu est faiblement

l'amponné, par une concentration trop élevée d'acide lactique non dissocié, dont nous montrerons le rôle dans le chapitre suivant. Il est donc clair que la classification de Orla Jensen des bacilles qui font fermenter les sucres avec production d'acide lactique repose sur la *facilité* avec laquelle on peut distinguer l'activité ou la fermentation secondaire, de la fermentation lactique proprement dite, et non sur une simple proportion entre les différents produits de ces fermentations ou activités fermentaires, proportion qui varie avec la réaction du milieu.

CHAPITRE VIII

ROLE DE L'ACIDE LACTIQUE NON DISSOCIÉ DANS L'ARRÊT DE LA FERMENTATION

Pour évaluer la concentration d'un milieu en acide lactique non dissocié, on mesure le pH du milieu et sa concentration en acide lactique, au sens chimique du mot, obtenue par la méthode de Fürth et Charnass, par exemple. En outre, il est nécessaire de faire appel à l'hypothèse fondamentale de la physico-chimie : la dissociation ionique d'un acide faible est une réaction réversible. Désignons par L la concentration moléculaire de l'acide lactique, par Lc^- la concentration des ions lactiques, par Lc H , celle de l'acide non dissocié, par H^+ celle des ions hydrogènes, et enfin par k la constante d'équilibre de la dissociation de l'acide lactique. Si on confond les moles et les activités des ions, ce qui est possible parce que nos milieux sont très dilués, on a :

$$(22) \quad L = \text{Lc}^- + \text{Lc H}$$

$$(23) \quad \text{Lc}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Lc H}$$

$$\frac{\text{Lc}^-}{k} = \frac{\text{Lc H}}{\text{H}^+} = \frac{L}{\text{H}^+ + k}$$

$$(24) \quad \text{Lc H} = L \frac{\text{H}^+}{\text{H}^+ + k}$$

La valeur de H^+ est donnée par le pH ; mais il ne faut pas oublier que le pH est, avant tout, la force électromotrice d'une certaine pile à un certain coefficient près. Toutefois, nous admettons que, dans nos solutions, le pH diffère peu de $\log 1/\text{H}^+$, comme le montre l'étude de solutions contenant à la fois un acide faible et son sel de soude (1).

La notion d'acide lactique non dissocié s'introduit dans l'étude de la fermentation lactique d'une manière naturelle quand on réfléchit aux faits suivants : premièrement, cette fermentation s'arrête d'autant plus tôt que le milieu de culture est plus faiblement tamponné. Deuxièmement, si le milieu renferme un car-

(1) Edwin J. Cohn : *J. of Am. Chem. Soc.*, 1927, p. 173. — Edwin J. Cohn, Francis F. Heyroth and Miriam F. Menkin : *J. Am. Chem. Soc.*, 1928, p. 696.

bonate alcalin ou alcalino-terreux, le ferment produit des quantités notables d'acide lactique avec une vitesse constante ; il en résulte que l'acidification du milieu doit être considérée comme la cause de l'arrêt de la fermentation. Troisièmement, si on fait fermenter plusieurs milieux de culture préparés en ajoutant à un même bouillon des quantités différentes de carbonate de potassium, on constate : 1^o que le pH d'arrêt de la fermentation dans chacun de ces milieux est rigoureusement constant d'un passage à l'autre ; j'ai pu cultiver une souche de *St. coccus lactis* pendant 5 mois sans observer une différence qui approche 1 unité de la deuxième décimale dans la mesure de ce pH d'arrêt ; 2^o que ce pH varie considérablement d'un milieu à l'autre ; il est d'autant plus élevé que le milieu renferme davantage de carbonate. On est donc conduit à penser que l'arrêt de la fermentation peut être dû à l'acide non dissocié. Pour le prouver, il suffit d'établir que la fermentation s'arrête dans tous les milieux de culture, préparés comme il a été dit ci-dessus, dès que la concentration en acide non dissocié atteint une valeur bien déterminée qui est la même pour tous les milieux de la même série.

Van Dam ⁴⁵ (1918) est le premier qui ait émis cette hypothèse. Holwerda ²⁵ (1922), puis Rogers et Whittier ³⁹ (1928), en ont montré l'exactitude pour les milieux de culture à base de lait. Toutefois, ces auteurs ajoutaient des quantités différentes de lactate de calcium à un certain volume d'un même bouillon de culture, ce qui leur fournissait une série de milieux. Or, chose curieuse, quand ils mesuraient la concentration de l'acide non dissocié de ces milieux après fermentation, ils constataient que cette concentration n'est la même pour tous les milieux de la série que si le bouillon était à base de petit lait sucré, ou de lait écrémé, dilué et sucré. Indépendamment de ces auteurs, j'ai ³¹ retrouvé cette loi en étudiant la fermentation d'une série de milieux à base de peptone (1 %), de phosphate de potassium (0,2 %) et de lactose (3 %), chaque milieu renfermant en outre une quantité déterminée de carbonate de potassium. La loi pressentie par van Dam est donc générale, ce qui écarte une des objections les plus sérieuses que l'on peut faire.

Toutefois, le fait que l'acide non dissocié ait la même concentration à l'arrêt de la fermentation, dans les milieux de culture d'une même série, ne suffit pas pour attribuer à cet acide l'arrêt de la fermentation. L'acide lactique peut donner naissance à certains composés comme l'acide lactyl-lactique. Or, si la concentration d'un composé est proportionnelle à celle de l'acide non dissocié, il n'y a pas de raison d'attribuer l'arrêt de la fermentation à l'un de ces corps plutôt qu'à l'autre.

Le tableau suivant contient les résultats de nos expériences : d'abord la concentration totale en acide formé, L, ensuite le pH d'arrêt, enfin la concentration en acide non dissocié, Lc H, calculée en supposant que k, la constante de dissociation de l'acide lactique, vaut $15,5 \times 10^{-5}$.

Tableau 16

Acide lactique formé en millimoles	p H	Acide non dissocié millimoles
35	4.27.....	9.0
50	4.40.....	10.2
64	4.51.....	10.6
79	4.67.....	9.5
93	4.79.....	8.8
108	4.88.....	8.4
122	4.96.....	8.1
150	5.05.....	8.2
191	5.20.....	7.4

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1^o Les propriétés électives des bacilles lactiques se distinguent de celles des levures ordinaires, et se rapprochent de celles des levures de Sauternes sur deux points principaux. En premier lieu, certains bacilles lactiques possèdent une électivité si prononcée pour le glucose qu'ils attaquent à peine le fructose ; mais, si le milieu renferme peu de sucre interverti, le fructose fermente *lentement*, après la disparition du glucose ; un autre bacille, le B. 30, fait fermenter le glucose et le fructose avec des vitesses voisines dans les mélanges de ces sucres ; mais, quand la concentration du glucose vient à tomber au-dessous d'une certaine valeur, le fructose fermente pratiquement seul, et, *ici encore la vitesse totale de la fermentation diminue considérablement*, à l'inverse de ce qui se passe avec les levures ordinaires qui fermentent le glucose, le fructose ou leur mélange avec des vitesses presque égales. En second lieu, tous les bacilles lactiques étudiés ont un pouvoir électif variable avec la concentration initiale du sucre interverti : si cette concentration est forte, le B. 30 déjà nommé, fait preuve d'une électivité en faveur du glucose, et, si elle est faible, d'une légère électivité en faveur du fructose. Cette variabilité du pouvoir électif appartient également à la levure de Sauternes, et non aux levures ordinaires. (Ch. V, §§ 4 et 5).

2^o Pour étudier les divers aspects de la fermentation élective, j'ai résumé les idées des auteurs qui se sont occupés de la question et je les ai rangées en deux catégories. Quelques-uns caractérisent l'électivité par les vitesses de fermentation proprement dites. Par contre, Gayon et Dubourg²³, MM. Willstätter et Sobotka⁴³ et MM. Fernbach, Schoen et Mori¹⁵ ont, en commun, l'idée que les variations du rapport des concentrations des sucres restants, au cours de la fermentation élective, sont le trait essentiel et caractéristique de ce phénomène ; j'ai appelé cette notion la déformation du milieu, notion que MM. Fernbach, Schoen et Mori ont

exprimée sous une forme remarquablement simple : pour eux, l'électivité résulte de la considération des vitesses de variation des taux des sucres, ce qui veut dire, en supposant que le mélange des sucres soit constitué de glucose et de fructose : taux de glucose pour 100 de glucose initial et taux de fructose pour 100 de fructose initial. A l'inverse de ces auteurs, je me suis attaché à donner des définitions précises des divers aspects de la fermentation élective, dans l'hypothèse où l'électivité est caractérisée par les vitesses de fermentation proprement dites (ch. II).

3^o Il convient de rechercher maintenant celui des deux points de vue, qui est le plus cohérent avec la nature intrinsèque de la fermentation élective. Or, en étudiant la fermentation lactique provoquée par le B. 30 dans des milieux où ces sucres avaient des concentrations différentes, j'ai constaté que les poids des deux sucres qui fermentent dans le même intervalle de temps sont dans un rapport qui varie très peu, tant que le rapport des concentrations des sucres restants ne tombe pas au-dessous de 1/6 ; sinon le sucre le plus concentré fermente pratiquement seul. Il est clair que la considération de la déformation du milieu ne permet pas d'interpréter convenablement l'expérience, parce qu'elle conduit à prétendre que l'électivité est en faveur du glucose quand le fructose est en excès sur le glucose et vice-versa. Par contre, cette fermentation élective montre une *analogie* remarquable avec le mécanisme des échanges entre le sol et les racines des plantes ; en effet, les quantités des éléments minéraux et de l'eau qui sont absorbées, sont entre elles dans des rapports qui ne varient pas avec les concentrations des éléments minéraux dans le liquide où baignent les racines (Mazé) ³⁶. Toutefois, il y a une différence capitale entre ces deux phénomènes : si un seul élément minéral vient à manquer, la plante absorbe seulement de l'eau, alors que, dans le cas de la fermentation, la disparition ou l'absence d'un sucre *n'arrête pas la fermentation de l'autre* ; il est vrai que la fermentation d'un sucre par entraînement se rapproche sur ce point de la nutrition proprement dite.

Cette analogie de l'électivité et de la nutrition se trouve confirmée par le fait que le B. 30 se développe avec plus d'abondance sur des milieux contenant du sucre interverti, que sur des milieux renfermant du glucose seul, ou du fructose seul, tous les autres éléments nutritifs étant rigoureusement les mêmes (Ch. V).

4^o Il résulte de ces expériences que la notion du pouvoir électif, tel que je le comprends, est, dans son ensemble, une propriété définie et spécifique du ferment. D'autre part, le pouvoir rota-

toire des acides de fermentation est une propriété des bacilles lactiques qui ne varie pas si on les cultive sur des milieux de concentrations différentes en sucre, ni même si on fait fermenter une solution de sucre interverti par des bacilles lavés. Il est donc possible d'assimiler ces deux propriétés des bacilles lactiques à deux caractères spécifiques se rapportant à deux fonctions physiologiques : l'une est la première attaque de deux sucres, c'est-à-dire de deux isomères, l'autre, la transformation en acide lactique des produits intermédiaires de la fermentation, acide qui est constitué en majeure partie par l'un des deux énantiomorphes. Or, si on compare ces deux propriétés asymétriques, — au sens où on l'entend aujourd'hui et que j'ai exposé au chapitre VI — chez plusieurs ferments lactiques, on constate qu'il n'y a aucune corrélation entre elles deux.

Il est nécessaire de rappeler, pour bien saisir la nature de la corrélation envisagée ici que les produits intermédiaires de la fermentation ne peuvent pas transmettre à l'acide lactique les différences de structure stérique des sucres attaqués comme l'avait envisagé Duclaux, car, ces produits intermédiaires, sont les mêmes pour tous les sucres, on l'admet aujourd'hui, et ils ne présentent aucune espèce d'asymétrie moléculaire (ch. VI).

5° J'ai comparé les rendements en acide lactique que l'on obtient avec deux *vrais ferments lactiques* ; en absence de craie, si le Thb. lactis produit presque uniquement de l'acide lactique, le β coc. bovis donne un rendement en acide lactique % du sucre disparu, qui passe lentement de 95 % à 35 % ; donc la réaction du milieu modifie les proportions relatives des produits de certaines fermentations lactiques. Ce même β coccus, cultivé en présence de craie, provoque des fermentations qui se divisent en deux temps : d'abord on observe une fermentation lactique à peu près pure ; ensuite la disparition du sucre est lente et le rendement de la fermentation en acide lactique est faible ; ce phénomène a déjà été observé avec le Bact. coli où il est beaucoup plus considérable. Si on rapproche ces deux faits, on comprend que la classification de Orla Jensen ²⁸ ne repose pas sur une valeur arbitrairement choisie du rendement de la fermentation en acide lactique, puisque la réaction du milieu peut modifier totalement le rendement, mais sur une propriété biologique du bacille qui, provoquant une fermentation lactique, peut également provoquer une fermentation secondaire, quand la culture a vieilli, ou que le milieu s'est acidifié, c'est-à-dire qu'il s'est enrichi en acide lactique non dissocié. La fermentation lactique, comme toutes les fermentations connues, satisfait donc à cette règle générale ; elle donne des produits acides en milieu

neutre, et des produits neutres (non dissociés en ions) en milieu acide si ces produits ne sont pas toxiques évidemment (ch. VII).

6° J'ai montré que la fermentation lactique s'arrête quand la concentration en acide lactique non dissocié atteint une certaine valeur, même quand le milieu ne renferme pas de petit lait, ce que van Dam ⁴⁵ et Holwerda ²⁵ qui ont découvert ce phénomène, n'avaient pu faire. La réussite de l'expérience tient à l'emploi d'une technique différente de celle de ces auteurs. Ainsi se trouve levée une objection grave qu'on avait faite contre cette théorie (ch. VIII).

BIBLIOGRAPHIE

1. G. BERTRAND. — La bactérie du sorbose. *Ann. Chim. et Phys.* (8^e série), t. 3, p. 253 (1904).
2. G. BERTRAND et F. DUCHACEK. — Action du ferment bulgare sur les principaux sucres. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 23, p. 402 (1909).
3. G. BERTRAND. — Résumé historique de la chimie des oses, particulièrement depuis E. Fischer. *Bull. Soc. Chim.*, t. 49, p. 637 (1931) (ligne 40).
4. E. BOURQUELOT. — Recherches sur la fermentation alcoolique d'un mélange de deux sucres. *Ann. Chim. et Phys.* (6^e série), t. 9, p. 245 (1886).
5. A. J. BROWN. — Influence of oxygen and concentration on alcoholic fermentation. *J. Chem. Soc.*, t. 61, p. 383 (1892).
6. BRAAK. — Recherches sur la dégradation par voie fermentative de la glycérine. (Thèse de doctorat présentée à l'Université de Groningue, 1928). *Ann. Brass. et Dist.*, t. 27, p. 183 (1928-29).
7. E. J. COHN. — The activity coefficients of the ions in certain phosphate solutions. A contribution to the theory of buffer action. *J. Am. Chem. Soc.*, t. 49, p. 173 (1927).
E. J. COHN, F. H. HEYROTH and Miriam MENKIN. — The dissociation constant of acetic acid and the activity coefficients of the ions in certain acetate solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, t. 50, p. 696 (1928).
8. F. DIENERT. — Sur la fermentation du galactose. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 14, p. 139 (1900).
9. F. DUCHACEK. — Sur une prétendue variation biochimique du ferment bulgare. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 29, pp. 288 et 347 (1915).
10. J. B. DUMAS. — Recherches sur la fermentation alcoolique. *Ann. Chim. et Phys.* (5^e série), t. 3, p. 57 (1874).
11. E. DUCLAUX. — *Traité de microbiologie*, t. 1, p. 220 et t. 4, p. 317.
12. DUBRUNFAUT. — Note sur une propriété analytique des fermentations alcoolique et lactique, et sur son application à l'examen des sucres. *Ann. Chim. et Phys.* (3^e série), t. 21, p. 169 (1847). *C. R. Ac. Sc.*, t. 25, p. 307 (1847).
13. EMDEN, d'après O. MEYERHOFF. — Sur les processus intermédiaires dans la dégradation des glucides (formation d'acide lactique et fermentation alcoolique). *Ann. Brass. et Dist.*, t. 32, p. 292 (1934).
14. A. FERNBACH et N. SCHILLER. — Du rôle de la réaction du milieu dans la fermentation élective. *C. R. Ac. Sc.*, t. 178, p. 2196 (1924).
15. A. FERNBACH, M. SCHÖEN et MOTOHICHI MORI. — Recherches sur les hexoses rendus optiquement neutres par les alcalis dilués. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 42, p. 805 (1928).
- A. FERNBACH, M. SCHÖEN et MOTOHICHI MORI. — Action de la levure sur les sucres rendus optiquement neutres par les alcalis dilués. *C. R. Ac. Sc.*, t. 184, p. 168 (1927).

- A. FERNBACH, M. SCHÖN et MOTOHICHI MORI. — Quelques observations sur la fermentation élective. *C. R. Ac. Sc.*, t. 184, p. 551 (1927).
16. A. FERNBACH et M. SCHÖN. — Quelques observations sur la fermentation élective. *Ann. Brass. et Dist.*, t. 27, p. 99 (1928-1929).
17. Th. E. FRIEDMANN, M^{lle} Margherita COTONIO et P. A. SHAFFER. — The determination of lactic acid. *J. Biol. Chem.*, t. 73, p. 335 (1927).
18. Th. E. FRIEDMANN. — On the determination of lactic acid in sugar solutions decomposed by alkali. *J. Biol. Chem.*, t. 76, p. 75 (1928).
19. Th. E. FRIEDMANN and A. I. KENDALL. — The determination of lactic acid. *J. Biol. Chem.*, t. 82, p. 23 (1929).
20. Th. E. FRIEDMANN et J. B. GRAESER. — The determination of lactic acid. *J. Biol. Chem.*, t. 100, p. 291 (1933).
21. C. FROMAGEOT und J. ROUX. — Über den Mechanismus des ersten Angriffes der Hexosen durch Milchsäure Bakterien. *Biochem. Z.*, t. 243, p. 175 (1931).
- G. FROMAGEOT. — Über den Mechanismus der Activierung des Glucose bei des Michsäuregärung. *Biochem. Z.*, t. 265, p. 13 (1933).
22. O. v. FÜRTH und D. CHARNASS. — Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure durch Ermittlung der daraus abspaltbaren Aldehydmenge. *Biochem. Z.*, t. 26, p. 199 (1910).
23. U. GAYON et E. DUBOURG. — Sur la fermentation alcoolique du sucre interverti. *C. R. Ac. Sc.*, t. 110, p. 865 (1890).
24. E. C. GREY. — Decomposition of formates by *Bacillus coli communis*. *Proc. Roy. Soc.*, t. 87, p. 461 (1914).
- E. C. GREY. — The enzyme which are concerned in the decomposition of glucose and mannitol by *Bacillus coli communis*. *Proc. Roy. Soc.*, t. 87, p. 472 (1914).
- E. C. GREY. — The enzyme concerned in the decomposition of glucose and mannitol by *Bacillus coli communis*. Experiments of short duration with an emulsion of the organisms. *Proc. Roy. Soc.*, t. 90, p. 75 (1919).
- E. C. GREY. — The enzyme concerned in the decomposition of glucose and mannitol by *Bacillus coli communis*. Various phases in the decomposition of glucose by an emulsion of *Bacillus coli communis*. *Proc. Roy. Soc.*, t. 90, p. 92 (1919).
- E. C. GREY. — The enzyme concerned in the decomposition of glucose by *Bacillus coli communis*. The fermentation of glucose in presence of formic acid. *Proc. Roy. Soc.*, t. 91, p. 294 (1920).
- E. C. GREY and YOUNG. — Anaerobic growth followed by anaerobic or aerobic fermentation. The effect of aeration during fermentation. *Proc. Roy. Soc.*, t. 92, p. 135 (1921).
- E. C. GREY. — The latent fermenting power of bacteria. *Proc. Roy. Soc.*, t. 96, p. 155 (1924).
- E. C. GREY. — A theory of the production of zymase by living cells. *Proc. Roy. Soc.*, t. 103, p. 302 (1928).
- E. C. GREY. — The enzymes of *Bacillus coli communis*. The alternative modes by which *Bacillus coli communis* may bring about the anaerobic decomposition of glucose. *Proc. Roy. Soc.*, t. 103, p. 312 (1928).
- Travaux cités par M. SCHÖN, dans le *Problème des fermentations*.
25. B. J. HOLWERDA. — Über Einfluss des Milchsäure auf die Milchsäuregärung. *Biochem. Z.*, t. 128, p. 465. (1922).

26. R. H. HOPKINS. — The selective fermentation of glucose and fructose by brewer's yeast. *Biochem. J.*, t. 22, p. 1144 (1928).
27. R. H. HOPKINS. — Selective fermentation. Alcoholic fermentation of glucose and fructose by brewer and Sauterne yeasts. *Biochem. J.*, t. 25, p. 245 (1931).
28. ORLA JENSEN. — Acid lactic bacteria (Copenhag, 1919).
29. JUNGFEISCH et GODCHOT. — Sur l'acide lactique droit. *C. R. Ac. Sc.*, t. 140, p. 719 (1905).
- JUNGFEISCH et GODCHOT. — Sur le dilactide droit. *C. R. Ac. Sc.*, t. 141, p. 111 (1905).
30. KLUYVER et DONKER. — La formation d'acétyl-méthyl-carbinol et du 2-3 butylène glycol dans la fermentation des sucres par les levures et les ferments lactiques véritables. *Ann. Brass. et Dist.*, t. 23, p. 310 (1924-25).
31. LE GALLIC. — Contribution à l'étude de la fermentation lactique. *C. R. Soc. Biol.*, t. 107, p. 146 (1931).
32. LE GALLIC. — Quelques observations sur la fermentation lactique. Phénomènes d'électivité. *C. R. Soc. Biol.*, t. 116, p. 826 (1934).
33. C. NEUBERG. — Über der Zerstörung von Milchsäurealdehyd und Methylgly oxal durch tierische organe. *Biochem. Z.*, t. 49, p. 502 (1913).
- C. NEUBERG. — Weitere Untersuchungen über die biochemische Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure nebst Bemerkungen über die Entstehung der verschiedenen Milchsäuren in der Natur. *Biochem. Z.*, t. 51, p. 484 (1913).
34. C. NEUBERG et M^{lle} M. KOBEL. — Über die Bildung von reiner d (—) Milchsäure durch frische Hefen und Trockenhefe sowie von d. l Milchsäure durch Hefenmazerationsaft. *Biochem. Z.*, t. 182, p. 470 (1927).
35. F. LIEBEN et M^{lle} LÖWE. — Über den Abbau von Glucose, Fructose und Glucosamin durch Bakterien. *Biochem. Z.* t. 252, p. 70 (1932) et *Bull. Inst. Pasteur*, t. 31, p. 400 (1933).
36. P. MAZE et A. PERRIER. — Recherches sur l'assimilation de quelques substances ternaires par les végétaux à chlorophylle. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 18, p. 721 (1904).
- P. MAZE. — Recherches de physiologie végétale. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 27, pp. 671 et 1125 (1913).
- P. MAZE. — Recherches sur le mécanisme des échanges entre les racines et le sol. Echanges entre les tissus de la plante. *Ann. Inst. Pasteur*, t. 29, p. 601 (1915) ; et t. 30, p. 138 (1916).
37. PASTEUR. — Note relative au *Penicillium glaucum* et à la dissymétrie moléculaire des produits organiques naturels. *C. R. Ac. Sc.*, t. 51, p. 298 (1860).
- PASTEUR. — A propos de la note de M. A. Piutti. *C. R. Ac. Sc.*, t. 103, p. 138 (1886).
38. C. S. PEDERSON, W. H. PETERSON et E. B. FRED. — The forms of lactic acid produced by pure and mixed culture of bacteria. *J. Biol. Chem.*, t. 68, p. 151 (1926).
39. L. A. ROGERS and E. O. WHITTIER. — Limiting factors in the lactic fermentation. *J. Bact.*, t. 16, p. 211 (1928).

40. M. SCHÆN. — Problèmes d'asymétrie dans les processus biochimiques. *Ann. Brass. et Dist.*, t. 32, p. 1 (1934).
 41. N. SCHILLER. — Recherches sur la fermentation élective. *Ann. Brass. et Dist.*, t. 23, p. 197 (1924-25).
 42. H. SOBOTKA et M^{lle} M. REINER. — Selective fermentation. Alcoholic fermentation of glucose, fructose and mannose mixtures. *Biochem. J.*, t. 24, p. 926 (1930).
H. SOBOTKA et M^{lle} REINER. — Selective fermentation. Fermentation of sugar mixtures by Sauternes yeast. *Biochem. J.*, t. 24, p. 1784 (1930).
 43. E. SOUBEIRAN. — Note sur la fermentation des sucres. *J. Pharm.* (3^e série), t. 4, p. 347 (1843).
 44. E. L. TATUM, W. H. PETERSON and E. B. FRED. — Effect of associated growth on forms of lactic acid produced by certain bacteria. *Biochem. J.*, t. 26, p. 846 (1932).
 45. W. VAN DAM. — Über den Einfluss der Milchsäure auf die Milchsäuregärung. *Biochem. Z.*, t. 87, p. 107 (1918).
 46. A. I. VIRTANEN. — Die Cozymasen bei verschiedenen organen. *Ber. der. deuls. Chem. Ges.*, t. 58 B, p. 2441 (1925) ; et *Chem. Abst.*, t. 20, p. 212 (1926).
 47. R. WILLSTATTER und H. SOBOTKA. — Vergleich von d und glucose in der Gärung. *Z. f. Physiol. Chem.*, t. 123, p. 164 (1922).
 48. R. WILLSTATTER und H. SOBOTKA. — Über auswählende Gärung von Zuckergemische. *Z. f. Physiol. Chem.*, t. 123, p. 170 (1922).
-



